

**KINETIKA KIMIA GLUKOSA DARI PATI BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DENGAN KATALISATOR ENZIM α -AMILASE
DAN GLUKOAMILASE**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
MAKASSAR

Oleh:

SARTIKA AMIN
NIM: 60500112072

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN ALAUDDIN MAKASSAR**

2017

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sartika Amin
NIM : 60500112072
Tempat/ Tgl.Lahir : Enrekang/ 24 Desember 1993
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Alamat : Jln. Veteran Bakung, Perumahan Bakung Regency Blok B/4,
Kelurahan Samata, Kecamatan Somba Opu.
Judul : Kinetika Kimia Glukosa dari Pati Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan katalisator enzim α -amilase dan glukamilase.

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa skripsi merupakan duplikat, tiruan, plagiat atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Samata-Gowa, 2017

Penyusun

Sartika Amin
NIM: 60500112072

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Kinetika Kimia Glukosa dari Pati Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan Katalisator Enzim α -amilase dan Glukoamilase”, yang disusun oleh Sartika Amin, NIM : 60500112072, Mahasiswa Jurusan Kimia pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada Selasa, tanggal 3 Oktober 2017 M, bertepatan dengan 13 Muharram 1439 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Sains dan Teknologi, Jurusan Kimia (dengan beberapa perbaikan).

Samata-Gowa, 03 Oktober 2017 M.
13 Muharram 1439 H.

DEWAN PENGUJI:

Ketua	: Dr. Muh. Thahir Maloko, M.Hi.	(.....)
Sekretaris	: Sjamsiah, S.Si.,M.Si.,Ph.D.	(.....)
Munaqisy I	: Dra. Sitti Chadijah, M.Si.	(.....)
Munaqisy II	: Aisyah, S.Si.,M.Si.	(.....)
Munaqisy III	: Prof. Dr. H. M. Ghalib M.,M.A	(.....)
Pembimbing I	: H. Asri Saleh, ST.,M.Si.	(.....)
Pembimbing II	: Sappewali, S.Pd., M.Si.	(.....)



Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar,

Prof. Dr. H. Arifuddin, M.Ag
NIP. 19691205 199303 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur atas kehadiran Allah swt., karena atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “**Kinetika Kimia Glukosa dari Pati Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan katalisator enzim α -amilase dan glukamilase**” dapat terselesaikan.

Penyusunan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan akademik guna memperoleh gelar sarjana sains pada Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar. Dalam penyajian skripsi ini, penyusun menyadari masih belum mendekati kesempurnaan. Oleh karena itu, sangat mengharapkan saran yang sifatnya membangun sebagai bahan masukan yang bermanfaat demi perbaikan dalam bidang ilmu pengetahuan. Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini ucapan terima kasih dan penghargaan dengan penuh hormat yang setinggi-tingginya kepada *kedua orang tuaku tercinta, Ayahanda Amin dan Ibunda Rosmini yang telah mendoakan, membimbing, memberikan motivasi dan dukungan materi dengan tulus dan penuh kasih sayang kepada penulis. Semoga Allah swt. selalu memberikan kesabaran, ketabahan, kesehatan dan melindungi kita. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada:*

1. Bapak Prof. Dr. Musafir Pababbari, M.Si., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.

2. Bapak Prof. Dr. H. Arifuddin Ahmad, M.Ag., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.
3. Ibu Sjamsiah, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.
4. Ibu Aisyah, S.Si., M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar sekaligus Penguji II yang senantiasa memberikan kritik dan saran kepada penulis.
5. Bapak H. Asri Saleh, S.T., M.Si., selaku Pembimbing I dan *Bapak Sappewali, S.Pd., M.Si., selaku Pembimbing II, yang telah meluangkan waktu, pikiran dan tenaga dalam memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan petunjuk mulai penyusunan proposal penelitian hingga perampungan skripsi ini.*
6. Ibu Dra. Sitti Chadijah, M.Si., selaku Kepala Laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar sekaligus sebagai penguji I
7. Bapak Prof. Dr. Ghalib, M.A, selaku Penguji III yang senantiasa memberikan kritik dan saran kepada penulis.
8. Para Dosen Jurusan Kimia yang telah mendidik dan memberikan ilmu kepada penulis.
9. Musyawirah Baharuddin, S.Pd.I. selaku Staf Jurusan Kimia dan Para Laboran Jurusan Kimia khususnya Andi Nurahma, S.Si., yang selalu sabar mendampingi dan memberikan masukan demi kelancaran penelitian ini.
10. Saudara-saudaraku Arniyanti Amin, S.Kep.Ners. dan Rahmat Jaya Amin serta seluruh keluarga yang memberikan dukungan.

11. Seluruh teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar Angkatan 2012. Terkhusus kepada Nurhamida, Nur Wahidah, Mentari, A. Idriani, Nursyah Fitri, Fitrah, A. Nurfadilla, Lismawati, Arisma dan Sri Sulaeha yang senantiasa selalu bersama dalam suka maupun duka selama menempuh kuliah di Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar.

Demikian pernyataan terima kasih dan penghargaan ini penulis sampaikan kepada semua yang telah berjasa. Semoga Allah swt. berkenan memberikan balasan yang berlipat ganda, Aamiin.

Samata-Gowa, 2017

Penyusun



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1-6
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7-26
A. Biji Buah Alpukat	7
B. Pati.....	11
C. Enzim α -amilase dan Glukoamilase.....	17
1. Enzim α -amilase.....	17
2. Enzim Glukoamilase	18
D. Kinetika Kimia	19
1. Hukum Laju.....	21

2. Kinetika Kimia.....	23
E. Spektrofotometer UV-Vis	26
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	27-30
A. Waktu dan Tempat	27
B. Alat dan Bahan.....	27
C. Prosedur Kerja.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31-42
A. Hasil Pengamatan.....	31
1. Penentuan Kandungan Pati	31
2. Penetapan Orde Reaksi dan Konstanta Laju Reaksi Hidrolisis Pati Biji Alpukat	32
3. Penentuan Kinetika Enzimatik Pati Biji Alpukat.....	33
B. Pembahasan.....	34
1. Ekstraksi Pati	34
2. Penentuan Kandungan Pati dan Hidrolisis Pati Biji Alpukat.....	35
3. Penentuan Orde Reaksi dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Pati Biji Alpukat	38
4. Penentuan Kinetika Enzimatik.....	40
BAB V PENUTUP.....	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44-46
LAMPIRAN.....	47-73
RIWAYAT HIDUP.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi Biji Alpukat	9
2.2 Parameter Fisikokimia Pati dari Biji Alpukat	10
4.1 Data Hasil Analisis Kandungan Pati.....	31
4.2 Absorbansi Standar Glukosa.....	31
4.3 Data Hasil Hidrolisis Pati Biji Alpukat Variasi Waktu	32
4.4 Data Kadar Hasil Hidrolisis Pati Biji Alpukat Menggunakan Katalisator Enzim	32
4.5 Data Penetapan Orde I.....	33
4.6 Data Penetapan Orde II	33
4.7 Data Kinetika Enzimatik Pengalihan Persamaan Michaelis-Menten.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Buah Alpukat	8
2.2 Struktur Rantai Amilosa.....	11
2.3 Struktur Rantai Amilopektin.....	12
2.4 Reaksi Pada Proses Likuifikasi	16
2.5 Reaksi Pada Proses Sakarifikasi	17
4.1 Kurva Absorbansi Standar Glukosa.....	36
4.2 Kurva Hidrolisis Pati Biji Alpukat Tiap Satuan Waktu.....	37
4.3 Kurva Konversi Pati Versus Waktu.....	37
4.4 Kurva Orde I.....	38
4.5 Kurva Orde II.....	39
4.6 Kurva Hubungan Antara $1/V$ dan $1/[S]$	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Alir Prosedur Penelitian	47
2. Bagan Alir Prosedur Kerja.....	48
3. Prosedur Hidrolisis dengan Katalisator Enzim.....	52
4. Data Analisis Kadar Air dari Sampel Biji Alpukat.....	54
5. Data Penentuan Gula BM Rendah yang Hilang	54
6. Data Penentuan Uji Kandungan Pati Biji Alpukat	55
7. Data Penentuan Hidrolisis Pati Oleh Katalis Enzim Tiap Satuan Waktu	57
8. Data Penetapan Kadar Pati Biji Alpukat Hasil Hidrolisis	59
9. Data Penetapan Orde Reaksi dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Pati Biji Alpukat	60
10. Perhitungan Kinetika Enzimatik.....	66
11. Lampiran Dokumentasi Penelitian.....	67

ABSTRAK

Nama : Sartika Amin

NIM : 60500112072

Judul Skripsi : Kinetika Kimia Glukosa dari Pati Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan katalisator enzim α -amilase dan glukoamilase

Kebutuhan gula di Indonesia meningkat setiap tahunnya, sehingga produksi gula juga harus ditingkatkan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula yaitu tumbuhan yang mengandung kadar pati seperti biji alpukat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui orde reaksi, konstanta laju serta mengetahui konstanta Michaelis-Menten kinetika enzimatik dari hidrolisis pati biji alpukat dengan menggunakan enzim. Penelitian ini dilakukan dengan metode hidrolisis enzim dengan bantuan enzim α -amilase dan enzim glukoamilase sebagai katalisator dengan variasi waktu hidrolisis yaitu (24, 48, 72, 96 dan 120) jam.

Hasil penelitian menunjukkan hidrolisis pati biji alpukat diperoleh kadar pati yaitu sebesar 22,82%. Konversi pati menjadi glukosa semakin meningkat seiring bertambahnya waktu hidrolisis. Orde reaksi hidrolisis pati biji alpukat mengikuti orde reaksi I karena nilai regresi yang diperoleh lebih besar dan mendekati 1 yaitu sebesar 0,9638 dengan nilai tetapan laju $k = 0,0099$. Nilai V_{maks} yang diperoleh sebesar 0,0098 %/jam dan $K_m = -0,9903$.

Kata kunci: Kinetika Kimia, Hidrolisis Pati, enzim α -amilase dan glukoamilase

ABSTRACT

Name : Sartika Amin

NIM : 60500112072

Thesis Title : *Chemical Kinetics of Glucose from Avocado Starch (Persea americana Mill.) With enzyme catalystan α -amylase and glucoamylase*

The need for sugar in Indonesia is escalated every year that Production of sugar must be raised. One of plants that is able to be used in production of sugar as material which contains starch content like avocado seed. This research is aimed to know reaction order, rapid constant, and Michaelis-Menten's constant enzymatic kinetics from hydrolysis of avocado starch by using enzyme. This research is conducted with hydrolysis enzyme method with enzyme α -amilase and enzyme Glucoamilase as catalyst with variant hydrolysis time (24, 48, 72, 96, and 120) hours.

The result showed that hydrolysis of avoado starch already earned starch content is 22.82%. Conversion of starch to glucose is higher as the hydrolysis time added. The order of hydrolysis reaction on avocado starch is following the first order reaction due to regression value which earned is bigger and closer to 1 that is 0.9638 with constant rapid value $k = 0.0099$. Value of V_{max} which earned is 0.0098 %/jam and $K_m = -0.9903$.

Keywords: *Chemical Kinetics, Starch Hydrolysis, enzyme α -amylase and glucoamylase*



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kebutuhan gula di Indonesia semakin meningkat seiring dengan meningkatnya pendapatan per kapita dan jumlah penduduk. Menurut catatan Badan Litbang Pertanian, produksi gula nasional pada tahun 2011 mencapai 2.228.591 ton, sedangkan perkiraan produksi gula pada tahun 2012 akan mencapai 2.683.709 ton. Berdasarkan *roadmap* swasembada gula, kebutuhan gula nasional pada tahun 2014 sebesar 2.956.000 ton (Giovanni *dkk.*, 2014). Karena kebutuhan gula di Indonesia meningkat setiap tahunnya, maka produksi gula juga harus ditingkatkan. Masyarakat hanya mengenal bahwa produksi gula berasal dari bahan baku tebu, padahal tidak hanya tebu yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan gula, tetapi tumbuhan lain yang mengandung kadar pati juga dapat dihidrolisis sehingga menghasilkan gula, salah satunya yaitu pati biji alpukat.

Hasil produksi alpukat di Indonesia yang jumlahnya meningkat di setiap tahunnya, seperti pada tahun 2010 produksi alpukat mencapai 224.278 ton, pada tahun 2011 sebanyak 275.553 ton, serta tahun 2012 sebanyak 294.200 ton (Halimah *dkk.*, 2014). Mengingat bahwa buah alpukat hanya baru dimanfaatkan dan diambil daging buahnya, sedangkan kulit dan bijinya dibuang menjadi limbah. Biji alpukat sebagai limbah yang belum digunakan secara ekonomis, menjadi sangat potensial sebagai sumber pati. Dengan kandungan karbohidrat tinggi yang terdapat di dalam biji alpukat, menjadikan biji alpukat ini dapat digunakan pula sebagai bahan baku pembuatan pati dari biji (Chandra *dkk.*, 2013). Allah swt. menciptakan tumbuhan

dengan tidak sia-sia yang mempunyai banyak manfaat bagi kemaslahatan manusia. Sebagaimana Allah swt. berfirman dalam QS. Asy-Syu'araa/26: 7-8.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ۝

Terjemahnya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sungguh pada yang demikian itu terdapat tanda (kebesaran Allah), tetapi kebanyakan mereka tidak beriman” (Kemenag RI, Al-Qur'an dan Terjemahnya, 2014: 367).

Menurut Shihab M. Quraish dalam tafsir Al-Misbah (2008: 187), disebutkan bahwa apakah mereka tidak melihat ke bumi, yakni mengarahkan pandangan, sepanjang, seluas dan seantero bumi, berapa banyak kami telah tumbuhkan dari setiap pasang tumbuhan dengan berbagai jenis yang kesemuanya tumbuh subur lagi bermanfaat? Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda yang membuktikan adanya pencipta Yang Maha Esa. Tetapi mereka tidak memperhatikan sehingga mereka tidak menemukan tanda-tanda itu.

Ayat ini menjelaskan bahwa Allah swt. memerintahkan agar kita tidak membatasi pandangan terhadap sesuatu hal, kita dianjurkan untuk berfikir luas dan melihat bahwa setiap yang diciptakan-Nya itu tidak sia-sia dan memiliki manfaat untuk makhluk-Nya. Setiap bagian dari tumbuh-tumbuhan yang diciptakan Allah swt. mempunyai manfaat masing-masing, mulai dari akar, batang, daun, buah bahkan bijinya. Salah satunya yaitu biji buah alpukat dapat digunakan dalam pengobatan dan digunakan dalam pembuatan glukosa sebagai bahan pemanis untuk makanan yang digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Sesungguhnya apa yang telah diciptakan oleh Allah swt. mempunyai hikmah yang sangat besar bagi setiap makhluk-Nya,

sebagai bukti kebesaran dan kekuasaan-Nya. Biji alpukat juga berperan sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan bagi tumbuhan, selain buah, batang dan akar.

Penyusun utama cadangan makanan alpukat yaitu karbohidrat. Kandungan karbohidrat pada biji alpukat cukup tinggi sehingga lebih menguntungkan jika yang diekstrak adalah pati (Chandra *dkk.*, 2013). Pati merupakan penyusun utama cadangan makanan tumbuh-tumbuhan. Pati adalah polimer D-glukosa dan ditemukan sebagai karbohidrat simpanan dalam tumbuhan. Pati terdapat sebagai butiran kecil dengan berbagai ukuran dan bentuk yang khas untuk setiap spesies tumbuhan. Pati terdiri atas dua polimer yang berlainan, senyawa rantai lurus yaitu amilosa dan komponen yang bercabang yaitu amilopektin (Lubis, 2008). Untuk mendapatkan pati dari suatu tanaman dilakukan proses ekstraksi pati yang merupakan proses memisahkan pati dari komponen lainnya yang terdapat pada biji buah alpukat. Pati yang didapatkan kemudian dihidrolisis untuk memperoleh glukosa (Chandra *dkk.*, 2013).

Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu hidrolisis asam dan hidrolisis enzim. Hidrolisis enzim lebih banyak memberikan keuntungan dibandingkan dengan hidrolisis asam. Hidrolisis enzim menghasilkan konversi yang lebih besar jika dibandingkan dengan hidrolisis asam. Hidrolisis enzim juga dapat mencegah adanya reaksi efek samping karena sifat katalis enzim sangat spesifik, sehingga dapat mempertahankan flavor dan aroma bahan dasar. Hidrolisa enzim dilakukan menggunakan bantuan enzim α -amilase dan enzim glukoamilase sebagai katalisator (Risnoyatiningsih, 2011).

Enzim α -amilase akan memutuskan ikatan 1,4 glikosidik secara acak baik pada amilosa maupun amilopektin pada rantai lurus. Enzim amilase tidak dapat memecah ikatan pati secara sempurna, sehingga selama proses likuifikasi dihasilkan dekstrin dengan rantai sepanjang 6-10 unit glukosa (Saraswati *dkk.*, 2004). Dekstrin merupakan hasil reaksi hidrolisis tidak sempurna dari pati dengan bantuan asam encer atau enzim sebagai katalisator. Oleh karena itu dekstrin dikenal sebagai bentuk intermediate produk dari proses hidrolisis pati oleh asam atau enzim menjadi glukosa atau maltosa (Ali, 2010). Pada proses sakarifikasi digunakan enzim glukoamilase yang akan memecah ikatan 1,4 dan 1,6 glikosidik sehingga dihasilkan glukosa tunggal (Saraswati *dkk.*, 2004). Proses hidrolisis dengan menggunakan enzim dapat berjalan dengan baik apabila menggunakan data kinetika yang tepat untuk mengendalikan produk yang dihasilkan, sehingga diperlukan penelitian tentang kinetika reaksi hidrolisis pati menjadi glukosa.

Kinetika reaksi digunakan dalam suatu mekanisme reaksi yaitu bagaimana reaksi itu terjadi dan kecepatan terjadinya reaksi kimia, yang menguji reaksi itu mengikuti tingkat atau orde ke berapa yang kemudian diperoleh suatu harga konstanta reaksi kimia serta mengetahui kinetika enzimatik (Indra dan Retno, 2010). Data kinetika enzimatik dapat ditentukan nilai K_m dan V_{maks} suatu enzim, sehingga dapat dilakukan optimalisasi penggunaan enzim tersebut sebagai biokatalisator dalam reaksi pemecahan substrat menjadi produk. Nilai K_m kecil berarti enzim mempunyai afinitas tinggi terhadap substrat (Ratnayani, 2015). Faktor-faktor yang berpengaruh pada hidrolisis pati antara lain, suhu reaksi, waktu reaksi, pencampuran pereaksi, konsentrasi dan kadar suspensi pati. Dari kinetika reaksi kimia, semakin tinggi suhu reaksi makin cepat jalannya reaksi, tetapi jika berlangsung pada suhu yang terlalu

tinggi, konversi akan menurun. Hal ini disebabkan adanya glukosa yang pecah menjadi arang (warna larutan hasil semakin tua). Semakin lama waktu hidrolisis, konversi yang dicapai semakin besar sampai pada batas waktu tertentu akan diperoleh konversi yang relatif baik dan apabila waktu tersebut diperpanjang, penambahan konversi lebih kecil (Mastuti dan Dwi, 2010).

Berdasarkan penelitian Zulhida dan Hery (2013) yaitu pemanfaatan biji alpukat sebagai bahan pembuatan pati dimana pada penelitian ini menghasilkan rendemen pati yaitu sebesar 20,8750%. Lubis (2008) mengekstraksi pati dari biji alpukat dan menghasilkan rendemen pati yaitu sebesar 14,22%. Peneliti-peneliti tersebut membuat pati dari biji alpukat. Pati yang diperoleh dari biji alpukat tersebut dapat diolah lebih lanjut untuk pembuatan glukosa. Maka dilakukanlah penelitian ini untuk membuat glukosa dari pati biji alpukat dengan menggunakan katalisator enzim untuk mempercepat reaksi dan dengan menggunakan data kinetika untuk mengetahui kecepatan terjadinya reaksi.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa orde reaksi dan nilai konstanta laju reaksi glukosa dari pati biji alpukat dengan katalisator enzim α -amilase dan glukamilase?
2. Berapa nilai V_{maks} dan nilai k_m glukosa dari pati biji alpukat dengan katalisator enzim α -amilase dan glukamilase?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan orde reaksi dan nilai konstanta laju reaksi glukosa dari pati biji alpukat dengan katalisator enzim α -amilase dan glukoamilase.
2. Menentukan nilai V_{maks} dan nilai k_m glukosa dari pati biji alpukat dengan katalisator enzim α -amilase dan glukoamilase.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan biji-bijian khususnya biji buah alpukat dalam pembuatan glukosa dengan menggunakan hidrolisis enzim.
2. Memberikan informasi kepada pembaca tentang kinetika reaksi glukosa dari pati biji alpukat menggunakan katalisator enzim α -amilase dan glukoamilase.

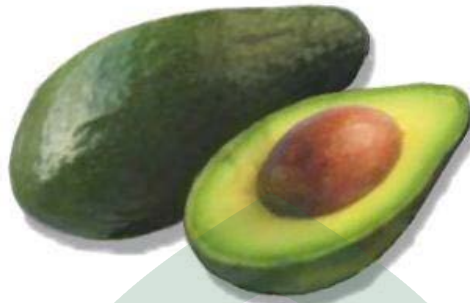
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Biji Buah Alpukat*

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia. Buah alpukat merupakan salah satu jenis buah yang digemari banyak orang karena selain rasanya yang enak, buah alpukat juga kaya antioksidan dan zat gizi (Malangngi *dkk.*, 2012). Perkembangan alpukat akhir-akhir ini mengalami peningkatan produksi. Hal ini dapat dibuktikan bahwa berdasarkan Badan Pusat Statistik tahun 2012, produksi alpukat di Indonesia yang diperoleh dari tahun 1997 hingga tahun 2011 cenderung mengalami peningkatan (Chandra *dkk.*, 2013). Menurut Plantamor (2012) dalam Chandra *dkk.* (2013) taksonomi tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.



Gambar 2.1 Buah Alpukat
(Sumber: Chandra dkk, 2013)

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman yang memiliki banyak varietas yang tersebar di seluruh dunia. Indonesia telah mengintroduksi 20 varietas alpukat dari Amerika Tengah dan Amerika Serikat untuk memperoleh varietas-varietas unggul guna meningkatkan kesehatan dan gizi masyarakat, khususnya di daerah dataran tinggi. Pohon alpukat tidak dapat tumbuh di suhu yang dingin, sehingga hanya bisa tumbuh pada iklim tropis dan subtropis. (Chandra dkk, 2013)

Bagian-bagian dari tanaman alpukat yaitu, buah, bunga, daun, batang, akar dan biji. Alpukat termasuk tanaman hutan yang tingginya mencapai 20 meter. Pohonnya berkayu, umumnya percabangan jarang dan arahnya horizontal. Bentuk pohonnya seperti kubah sehingga dari jauh tampak menarik. Daunnya panjang (lonjong) dan tersusun seperti pilin. Bunga alpukat keluar pada ujung cabang atau ranting dalam tangkai panjang. Warna bunga putih dan setiap bunga akan mekar sebanyak dua kali. Warna kulit buah bervariasi, warna hijau karena kandungan klorofil atau hitam karena pigmen antosiasin. Daging buah berwarna hijau di bagian bawah kulit dan menguning ke arah biji, seperti pada Gambar 2.1 (Chandra dkk, 2013). Biji alpukat tergolong besar, terdiri dari dua keping (*cotyledon*) dan dilapisi

oleh kulit biji yang tipis melekat. Biji tersusun oleh jaringan *parenchyma* yang mengandung sel-sel minyak dan butir tepung sebagai bahan cadangan makanan (Lubis, 2008).

Biji buah alpukat sampai saat ini hanya dibuang sebagai limbah yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Biji alpukat yang diolah menjadi pati, selain bermanfaat mengurangi pencemaran lingkungan, juga dapat menciptakan peluang usaha baru. Pati biji alpukat selanjutnya dapat diolah menjadi beberapa hasil olahan yang mempunyai nilai jual tinggi, antara lain dodol, kerupuk, *snack*, biskuit dan sebagainya. (Lubis, 2008). Komposisi biji alpukat dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Biji Alpukat (Chandra, 2013)

Komponen	Kadar	
	Basah (%)	Kering (%)
Kelembaban	50,58	0
Abu	1,34	2,70
Nitrogen	0,39	0,79
Protein	2,45	4,95
Gula tereduksi	1,60	3,24
Sukrosa	0,61	1,23
Total Gula	2,21	4,47
Pati	29,60	59,87
Pentosa	1,64	3,33
Arabinosa	2,04	4,12
Ekstrak eter	0,99	2,00

(Sumber: Leroy)

Tabel 2.2. Parameter Fisikokimia Pati dari Biji Alpukat (Chandra *dkk*, 2013).

Parameter	Hasil
Kadar Abu (% w/w)	0.42 ± 0.10
Kadar air (%)	7.81 ± 0.35
Total Lipid (g)	0.075 ± 0.002
Mg	2.04
Fe	1.44
Zn	0.03
Pb	0.00
Cd	0.00

(Sumber: Philip, 2010)

Biji alpukat juga memiliki kandungan yang kaya akan manfaat. Hasil penafisan fitokimia ekstrak biji alpukat menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tannin, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Biji alpukat dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati ginjal, sakit gigi, maag kronis, hipertensi dan diabetes melitus (Halimah *dkk.*, 2014). Khasiat lain tumbuhan ini diantaranya dapat mengobati sariawan, sebagai pelembab, kencing batu, darah tinggi, nyeri syaraf, nyeri lambung, saluran nafas membengkak, menstruasi tidak teratur dan sakit gigi (Zulhida dan Hery, 2013).

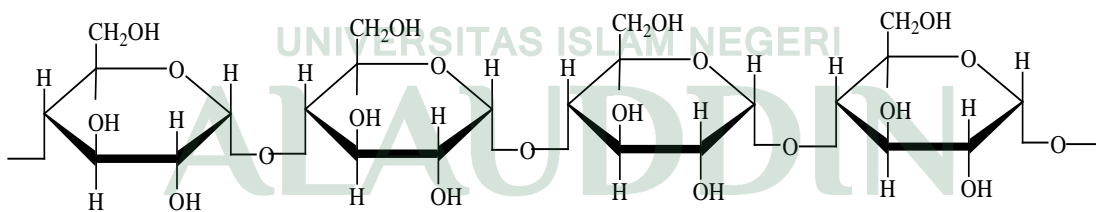
Salah satu manfaat biji alpukat adalah untuk mengobati ginjal. Gagal ginjal merupakan suatu keadaan dimana terjadinya penurunan fungsi ginjal secara optimal untuk membuang zat-zat sisa dan cairan yang berlebihan dalam tubuh. Berdasarkan estimasi Badan Kesehatan Dunia (WHO), secara global lebih dari 500 juta orang mengalami gagal ginjal kronik. Sekitar 1,5 juta orang harus menjalani hidup bergantung pada cuci darah (Hemodialisis). Di Indonesia, berdasarkan Pusat Data Statistik dan Informasi Perhimpunan Rumah Sakit Seluruh Indonesia, jumlah pasien

gagal ginjal kronik diperkirakan sekitar 50 orang per satu juta penduduk, 60%nya adalah usia dewasa dan usia lanjut (Halimah *dkk.*, 2014).

B. Pati

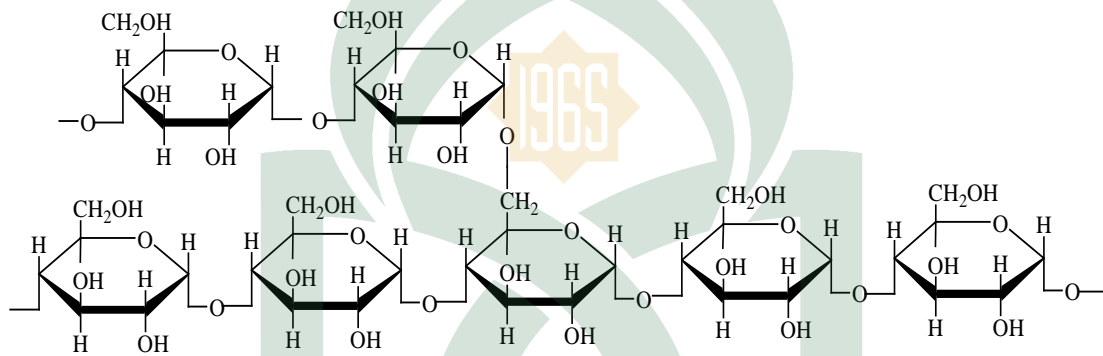
Pati merupakan penyusun utama cadangan makanan tumbuh-tumbuhan. Pati adalah polimer D-glukosa dan ditemukan sebagai karbohidrat simpanan dalam tumbuhan. Pati terdapat sebagai butiran kecil dengan berbagai ukuran dan bentuk yang khas untuk setiap spesies tumbuhan (Lubis, 2008). Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai C-nya, serta apakah lurus atau bercabang rantai molekulnya. Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut yaitu amilosa dan fraksi tidak terlarut yaitu amilopektin (Sutikno, 2008).

Amilosa merupakan bagian polimer dengan ikatan α -1,4 dari unit glukosa dan pada setiap rantai terdapat 500-2000 unit D-glukosa, membentuk rantai lurus yang umumnya dikatakan sebagai linier dari pati, seperti pada Gambar 2.2 (Putri, 2015).



Gambar 2.2 Struktur Rantai Amilosa
(Sumber: Putri, 2015)

Amilopektin adalah polimer berantai cabang dengan ikatan α -1,4 glikosidik dan ikatan α -1,6 glikosidik di tempat percabangan. Pada setiap cabang terdiri dari 25-30 unit D-glukosa. Struktur rantai amilopektin cenderung membentuk cabang yang berjumlah 4-5% dari seluruh ikatan yang ada pada amilopektin. Biasanya amilopektin mengandung 1000 atau lebih unit molekul glukosa untuk setiap rantai (Putri, 2015).



Gambar 2.3 Struktur Molekul Amilopektin
(Sumber: Putri, 2015)

Pati dapat dihidrolisis menjadi rantai-rantai yang menghasilkan monomer yang lebih sederhana seperti glukosa.

Glukosa adalah monosakarida yang paling banyak terdapat di dalam buah-buahan, tumbuh-tumbuhan, madu, darah dan cairan binatang. Glukosa juga dapat dihasilkan melalui hidrolisis polisakarida atau disakarida baik menggunakan asam atau enzim. Glukosa merupakan bahan baku yang menarik untuk industri kimia, farmasi, dan agroindustri lain. Hidrogenasi glukosa menghasilkan sorbitol yang banyak digunakan dalam industri pangan, minuman dan formulasi bahan kosmetik. Glukosa juga bisa dijual atau dikomersialkan dalam bentuk cair, yaitu

sebagai sirup glukosa. Sirup glukosa banyak digunakan sebagai pemanis pada industri pangan (Risnoyatiningsih, 2011).

Sirup glukosa adalah nama dagang dari larutan hidrolisis pati. Sirup Glukosa digunakan untuk pemanis pada industri pangan (permen, selai dan pengalengan buah-buahan). Dekstrosa monohidrat lebih banyak digunakan dalam industri farmasi (bahan pembantu penabletan) dan minuman instan (Albaasith *dkk.*, 2014). Sirup glukosa adalah suatu larutan kental yang diperoleh dari proses hidrolisa pati menggunakan katalis asam atau enzim yang kemudian dimurnikan dan dikentalkan sampai kekentalan tertentu (Fairus *dkk.*, 2010).

Mutu sirup glukosa terutama ditentukan oleh tingkat konversi pati menjadi komponen glukosa, maltosa dan dekstrin yang dikenal dengan dekstrosa ekuivalen (DE). Semakin tinggi nilai dekstrosa ekivalen semakin tinggi pula kandungan glukosanya dan semakin rendah kandungan dekstrinnya. Sirup glukosa yang bermutu tinggi mempunyai nilai dekstrosa yang setinggi mungkin. Selain ditentukan oleh nilai Dekstrosa ekuivalen, mutu sirup glukosa juga ditentukan berdasarkan kadar abu, kadar bahan kering, warna dan kejernihannya (Fairus *dkk.*, 2010). Pada dasarnya glukosa dapat diperoleh dari pati dengan cara hidrolisis.

Hidrolisis merupakan reaksi pengikatan gugus hidroksil (-OH) oleh suatu senyawa. Gugus OH dapat diperoleh dari senyawa air. Hidrolisis dapat digolongkan menjadi hidrolisis murni, hidrolisis katalis asam, hidrolisis katalis basa, gabungan alkali dengan air dan hidrolisis dengan katalis enzim, sedangkan berdasarkan fase reaksi yang terjadi diklasifikasikan menjadi hidrolisis fase cair dan hidrolisis fase uap (Giovanni, 2014). Hidrolisis adalah reaksi kimia antara air dengan suatu zat lain yang menghasilkan satu zat baru atau lebih dan juga menyebabkan suatu larutan

terdekomposisi dengan menggunakan air. Reaksi hidrolisis pada umumnya merupakan reaksi yang endoterm atau memerlukan kalor. Prinsip dari hidrolisis pati pada dasarnya yaitu pemutusan rantai polimer pati menjadi unit-unit dekstrosa ($C_6H_{12}O_6$). Pemutusan rantai polimer untuk membentuk unit dekstrosa ini dapat terjadi melalui beberapa cara misalnya secara enzimatik, kimiawi ataupun kombinasi keduanya (Muin *dkk.*, 2014).

Hidrolisis pati terjadi antara suatu reaktan pati dengan reaktan air. Menurut Giovanni (2014) ada beberapa variabel yang berpengaruh terhadap reaksi hidrolisis, yaitu katalisator, suhu dan tekanan, pencampuran (pengadukan), perbandingan zat pereaksi. Reaksi hidrolisis pati sangat lambat sehingga diperlukan katalisator untuk mempercepat reaksinya.

Katalisator yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis dapat berupa asam atau enzim. Asam dapat berpengaruh terhadap kelarutan protein dalam tepung, sehingga lebih baik menggunakan katalisator enzim. Keuntungan dalam menggunakan katalisator enzim adalah tidak dihasilkannya hasil samping karena sifat enzim yang spesifik dan operasionalnya berlangsung pada temperatur rendah sehingga dapat menghemat energi dan tidak terjadi pengarangan (karamelisasi) pada glukosa yang dihasilkan (Retno *dkk.*, 2011). Hidrolisis secara enzimatik memiliki perbedaan mendasar dengan hidrolisis secara asam yang biasanya menggunakan asam kuat berupa HCl. Hidrolisis yang menggunakan asam kuat (HCl) akan memutus rantai pati secara acak, sedangkan hidrolisis secara enzimatik memutus rantai pati secara spesifik pada percabangan tertentu. Hidrolisis dengan asam kuat (HCl) hanya akan mendapatkan sirup glukosa dengan ekuivalen dekstrosa (DE) sebesar 55. Hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keuntungan, yaitu prosesnya lebih spesifik,

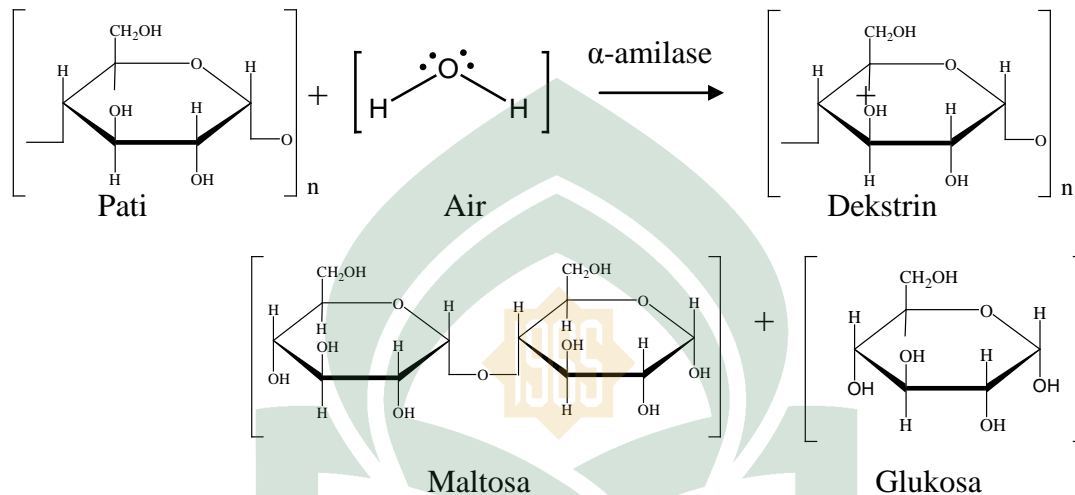
kondisi prosesnya dapat dikontrol, biaya pemurnian lebih murah, dihasilkan lebih sedikit abu dan produk samping, dan kerusakan warna dapat diminimalkan. Pada hidrolisis pati secara enzimatis untuk menghasilkan sirup glukosa, enzim yang dapat digunakan adalah α -amilase, β -amilase, amiloglukosidase, glukosa isomerase, pululanase dan isoamilase (Giovanni, 2014).

Hidrolisis dengan enzim dapat menghasilkan beberapa produk hidrolisat pati dengan sifat-sifat tertentu yang didasarkan pada nilai DE (ekuivalen dekstroza). Nilai DE 100 adalah murni dekstroza sedangkan nilai DE 0 adalah pati alami. Hidrolisat dengan nilai DE 50 adalah maltosa, nilai DE di bawah 20 adalah maltodekstrin, sedangkan hidrolisat dengan DE berkisar antara 20-100 adalah sirup glukosa (Albaasith *dkk.*, 2014). Adapun proses pada pembuatan sirup glukosa dengan hidrolisis menggunakan katalis enzim yaitu sebagai berikut:

a. Proses Likuifikasi

Likuifikasi merupakan proses pencairan gel pati untuk memperoleh viskositas yang lebih rendah dengan cara menghidrolisis pati menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dari oligosakarida atau dekstrin melalui bantuan enzim α -amilase. Proses ini diawali dengan gelatinisasi pati atau pemanasan granula pati dengan air hingga mengembang dan rusak, sehingga pati dapat terlarut yang ditandai dengan menurunnya viskositas larutan. Enzim α -amilase akan aktif terhadap substrat berbentuk gel. Oleh karena itu, proses likuifikasi yang dilakukan tanpa digelatinisasi terlebih dahulu memerlukan waktu beberapa jam bila dibandingkan dengan adanya perlakuan gelatinisasi, proses likuifikasi hanya dapat berlangsung selama beberapa menit sesuai dengan penambahan enzim yang digunakan. Proses likuifikasi

membutuhkan kondisi pH 6-7 pada suhu antara 90-110°C. Dibawah ini merupakan persamaan reaksi pada proses likuifikasi (Robi'a dan Aji, 2015).



Gambar 2.4 Reaksi pada Proses Likuifikasi

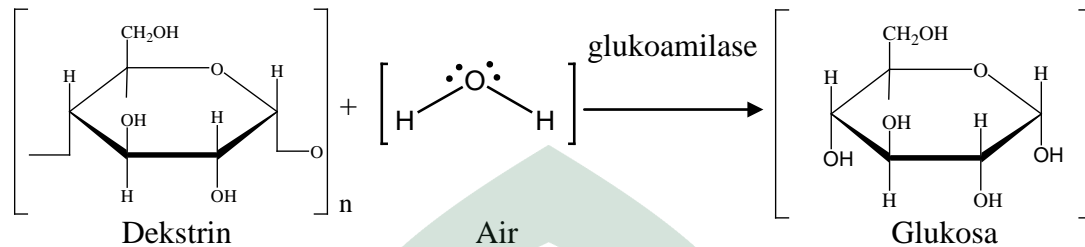
(Sumber: Whitaker, J.R. 1996)

Alfa-amilase adalah enzim ekstraseluler yang bersifat termostabil dan berfungsi menghidrolisis ikatan 1,4- α -glikosida dari bagian dalam pati baik pada amilosa dan amilopektin menjadi molekul-molekul dengan berat lebih kecil seperti glukosa, maltosa, dekstrin dan oligosakarida yang ditandai dengan semakin rendahnya viskositas larutan. Disebut sebagai endoamilase karena enzim alfa-amilase ini memecah pati secara acak dari tengah dan bagian dalam molekul (Robi'a dan Aji, 2015).

b. Proses Sakarifikasi

Pada tahap sakarifikasi, dekstrin hasil likuifikasi akan dihidrolisis lebih lanjut oleh enzim glukoamilase untuk dikonversi menjadi glukosa. Proses sakarifikasi dapat dilakukan pada temperatur 55-66°C, pH 4-4.5.

Persamaan reaksi pada proses sakarifikasi:



Gambar 2.5 Reaksi pada Proses Sakarifikasi

(Sumber: Whitaker, J.R. 1996)

Glukoamilase dapat dihasilkan dari jamur *Aspergillus niger* dan *Rhizopus delemar*. Glukoamilase memotong pati secara acak untuk menghasilkan molekul-molekul glukosa. Enzim ini memecah ikatan α -1,4-glikosida dan α -1,6-glikosida. Glukoamilase mempunyai afinitas rendah terhadap ikatan α -1,6- glikosida yang terdapat pada percabangan struktur amilopektin yang umumnya merupakan komponen utama dari pati dengan kandungan sekitar 75-80% (Robi'a dan Aji, 2015).

C. Enzim α -Amilase dan Glukoamilase

Enzim dapat mempercepat reaksi (sebagai katalis), enzim tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya dan enzim tidak mengubah kedudukan normal dari keseimbangan kimia. Dengan kata lain enzim dapat membantu mempercepat pembentukan produk, tetapi akhirnya jumlah produk tetap sama dengan produk yang diperoleh tanpa enzim. Kondisi yang mempengaruhi aktifitas enzim diantaranya konsentrasi enzim, konsentasi substrat, pH, dan suhu (Risnoyatiningsih, 2011).

1. Enzim α -Amilase

Enzim α -amilase dapat diperoleh dari malt, ludah manusia, pankreas dan diisolasi dari *Aspergillus oryzae* dan *Bacillus subtilis* (pada suhu 70°C- 90°C dan pH 6-10), *Bacillus licheniformis* (pada suhu 60°C dan pH 6). Isolasi dan pemurnian

enzim dilakukan berdasarkan fraksinasi dengan garam (pada suhu lebih besar dari 65°C), juga dengan penggunaan panas biasanya 70°C pada waktu 15 menit. Kemudian dilakukan pencampuran glikogen sehingga terjadi kompleks enzim-glikogen (Risnoyatiningsih, 2011).

Cara kerja α -amilase pada molekul amilosa terjadi 2 tahap pertama, degradasi amilosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat pula. Yang kedua, relatif sangat lambat yaitu pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir yang terjadi secara tidak acak. Sedangkan cara kerja α -amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa dan α -limit dekstrin. Jenis α -limit dekstrin yaitu oligosakarida yang terdiri dari 4 atau lebih residu gula yang mengandung ikatan α -1,6. Hidrolisis amilosa akan lebih cepat dari pada hidrolisis rantai yang bercabang seperti amilopektin. Laju hidrolisis akan meningkat bila tingkat polimerisasi menurun dan laju hidrolisis akan lebih cepat pada rantai lurus (Risnoyatiningsih, 2011). Enzim amilase optimum pada suhu 95°C, konsentrasi Ca^{2+} 20-80 ppm dan pH 6-6,5 (Saraswati dkk., 2004).

2. Enzim Glukoamilase

Enzim Glukoamilase diproduksi dari *Aspergillus* dan *Rhizopus*. Enzim glukoamilase memecah pati dari luar dengan mengeluarkan unit-unit glukosa dari ujung. Enzim tersebut dapat menghidrolisis pati sampai mencapai DE 95-98 (Dextrosa Ekuivalen yaitu kenaikan derajat konversi) (Risnoyatiningsih, 2011).

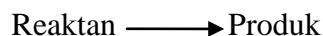
Glukoamilase digunakan pada proses sakarifikasi yang akan memecah ikatan -1,4 dan -1,6 glikosidik sehingga dihasilkan glukosa tunggal. Konsentrasi substrat berpengaruh pada kecepatan reaksi enzimatik. Efek dari konsentrasi substrat pada kecepatan awal dari reaksi amat penting dimana kecepatan tersebut merupakan

fungsi dari konsentrasi substrat. Sebelum terjadi hidrolisa, maka enzim dan substrat bergabung terlebih dahulu membentuk kompleks. Pada kadar substrat yang rendah tidak semua enzim dapat mengikat substrat sehingga banyaknya substrat yang diubah persatuan waktu oleh enzim juga rendah. Bila konsentrasi substrat yang dinaikkan, makin banyak enzim yang dapat bergabung, maka kecepatan reaksinya menjadi naik. Demikian berlangsung seterusnya sampai tercapai kecepatan maksimum, berarti semua enzim yang berada dalam sistem tersebut telah mengikat substrat atau semua enzim telah dijenuhi oleh substrat (Saraswati *dkk.*, 2004).

Konsentrasi substrat yang terlalu tinggi dan enzim yang terlalu rendah akan menyebabkan larutan selama proses gelatinasi amat kental dan sukar diaduk. Kondisi optimum untuk enzim glukoamilase terjadi pada suhu 60°C dan pH 4-4,5. Aktivitas enzim tergantung pada suhu dan pH. Jika pemanasan diteruskan pada suhu yang lebih tinggi dari 95°C akan terjadi penurunan aktivitas. Karena enzim adalah protein, maka pH juga akan mempengaruhi stabilitas enzim dengan cara mengubah strukturnya bila pH substrat terlalu asam atau basa (Saraswati *dkk.*, 2004).

D. Kinetika Kimia

Energi kinetik didefinisikan sebagai energi yang tersedia karena gerakan suatu benda kinetika yang merujuk pada laju reaksi yaitu perubahan konsentrasi reaktan atau produk terhadap waktu. Setiap reaksi dapat dinyatakan dengan persamaan umum:



Persamaan tersebut memberitahukan bahwa selama berlangsungnya suatu reaksi, molekul reaktan bereaksi sedangkan molekul produk terbentuk. Sebagai hasilnya,

dapat diamati jalannya reaksi dengan cara memantau menurunnya konsentrasi reaktan atau meningkatnya konsentrasi produk (Chang, 2004).

Menurut Kristianingrum (2003), faktor-faktor yang mempengaruhi laju reaksi adalah sebagai berikut:

a. Sifat dan Keadaan Zat

Dalam reaksi kimia terjadi pemutusan dan pembentukan ikatan, dimana jenis ikatan yang dimiliki oleh reaktan dapat mempengaruhi laju reaksi. Selain itu, luas permukaan zat-zat yang bereaksi sangat berpengaruh terhadap laju reaksi, sehingga suatu zat dalam bentuk serbuk dan bongkahan/kepingan akan memiliki laju reaksi yang berbeda.

b. Konsentrasi

Makin besar konsentrasi zat reaktan berarti besar kemungkinan terjadinya tumbukan yang efektif, sehingga laju reaksinya akan semakin cepat. Tumbukan yang efektif adalah tumbukan antar molekul yang menghasilkan reaksi, dan hanya dapat terjadi bila molekul yang bertumbukan tersebut memiliki energi aktivasi yang cukup. Energi aktivasi adalah energi minimum yang harus dimiliki molekul agar tumbukannya menghasilkan reaksi.

c. Temperatur

Menaikkan suhu berarti menambahkan energi, sehingga energi kinetik molekul-molekul akan meningkat. Akibatnya molekul-molekul yang bereaksi menjadi lebih aktif mengadakan tumbukan. Dengan kata lain, kenaikan suhu menyebabkan gerakan molekul makin cepat sehingga kemungkinan tumbukan yang efektif makin banyak terjadi.

d. Katalisator

Katalisator adalah zat yang mempercepat reaksi, tetapi tidak ikut bereaksi. Adanya katalis akan menurunkan energi aktivasi (E_a) dari suatu reaksi, sehingga lebih mudah dilampaui oleh molekul-molekul reaktan akibatnya reaksi menjadi lebih cepat.

1. Hukum Laju

Hukum laju menunjukkan hubungan antara laju reaksi dengan konsentrasi reaktan. Dalam penurunan hukum laju dikenal istilah orde reaksi atau tingkat reaksi, yaitu bilangan pangkat yang menyatakan hubungan konsentrasi zat dengan laju reaksi. Harga orde reaksi hanya dapat ditentukan melalui eksperimen, sedangkan tahap penentu laju reaksi adalah reaksi yang paling lambat (Kristianingrum, 2003).

Reaksi orde satu dan orde dua dapat dilihat pada penejelasan berikut (Chang, 2004):

a. Reaksi Orde Pertama

Reaksi orde pertama adalah reaksi yang lajunya bergantung pada konsentrasi reaktan dipangkatkan dengan satu. Dalam reaksi orde pertama dari jenis



Lajunya adalah

$$\text{Laju} = - \frac{\Delta[A]}{\Delta t}$$

Dari hukum laju, dapat diketahui bahwa

$$\text{Laju} = k[A]$$

Jadi,

$$- \frac{\Delta[A]}{\Delta t} = k [A] \quad (1.1)$$

Dapat ditentukan satuan dari konstanta laju orde pertama dengan transposisi:

$$k = - \frac{\Delta[A]}{[A]} \frac{1}{\Delta t}$$

Dapat ditunjukkan dari persamaan (1.1) bahwa

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = -kt \quad (1.2)$$

Dimana \ln adalah logaritma natural dan $[A]_0$ dan $[A]$ adalah konsentrasi A masing-masing pada waktu $t = 0$ dan $t = t$. Perlu dipahami bahwa $t = 0$ tidak harus diartikan sebagai awal percobaan, waktu ini bias saja berarti setiap waktu yang dipilih untuk memantau perubahan dalam konsentrasi A.

Persamaan (1.2) dapat diubah menjadi:

$$\ln[A] - \ln[A]_0 = -kt$$

atau

$$\ln[A] = -kt + \ln[A]_0 \quad (1.3)$$

persamaan (1.3) memiliki bentuk persamaan linear $y = mx + b$, dengan m adalah kemiringan dari garis yang merupakan gambar dari persamaan:

$$\ln [A] = (-k) (t) + \ln [A]_0$$

$$\begin{array}{ccccccc} \downarrow & & \downarrow & & \downarrow & & \downarrow \\ y & = & m & x & + & b \end{array}$$

jadi, plot $\ln[A]$ versus t (y versus x) menghasilkan sebuah garis lurus dengan kemiringan $-k$ (m), ini memungkinkan untuk menghitung konstanta laju k .

b. Reaksi orde kedua

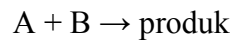
Reaksi orde dua adalah reaksi yang lajunya bergantung pada konsentrasi salah satu reaktan dipangkatkan dua atau pada konsentrasi dua reaktan berbeda yang masing-masingnya dipangkatkan satu.

$$\text{Laju} = - \frac{\Delta[A]}{\Delta t}$$

Dari hukum laju

$$\text{Laju} = k[A]^2$$

Satu jenis reaksi orde kedua yang lain adalah



dan hukum lajunya adalah

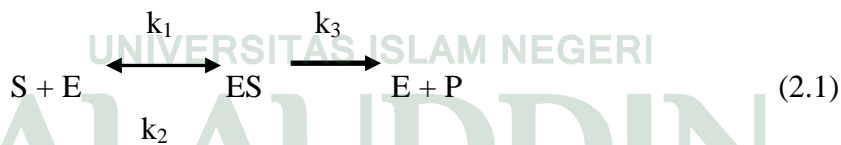
$$\text{laju} = k[A][B]$$

reaksi ini adalah reaksi orde pertama dalam A dan orde pertama dalam B, sehingga orde reaksi keseluruhannya adalah 2.

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt \quad (1.4)$$

2. Kinetika Reaksi Enzimatik

Model kinetika yang dipakai adalah model kinetika Michaelis-Menten. Model kinetika reaksi enzimatis dengan nisbah konsentrasi enzim awal dan substrat awal yang kecil, dapat dianggap mengikuti model kinetika Michaelis-Menten, dengan mekanisme reaksi sebagai berikut:



S = konsentrasi substrat

E = Konsentrasi enzim

ES = konsentrasi senyawa intermediate (senyawa kompleks)

P = konsentrasi produk

Persamaan laju reaksinya dinyatakan dengan kecepatan pembentukan produk terhadap waktu (dP/dt) atau adapt ditulis:

$$V = dP/dt = k_2 [ES] \quad (2.2)$$

Dimana:

V : Laju reaksi

dP/dt : kecepatan pembentukan produk terhadap waktu

$[ES]$: konsentrasi senyawa kompleks (enzim substrat)

(Mahreni dan Endang, 2004).

k_1 , k_2 dan k_3 masing-masing adalah tetapan kecepatan reaksi pembentukan kompleks ES, tetapan (konstanta) kecepatan reaksi pembentukan kembali E dan S dan tetapan (konstanta) kecepatan reaksi penguraian kompleks ES menjadi enzim dan hasil reaksi. Kecepatan reaksi pembentukan kompleks ES adalah:

$$V_1 = k_1 [E] [S]$$

$$V_1 = k_1 ([E_0] - [ES]) [S] \quad (2.3)$$

$[E_0] - [ES]$ menyatakan konsentrasi enzim yang masih bebas dan $[S]$ adalah konsentrasi substrat. Kecepatan penguraian kompleks ES menjadi E dan S kembali adalah:

$$V_2 = k_2 [ES] \quad (2.4)$$

sedangkan kecepatan penguraian ES menjadi E dan P adalah:

$$V_3 = k_3 [ES] \quad (2.5)$$

jadi, kecepatan penguraian ES adalah:

$$V_2 + V_3 = k_2 [ES] + k_3 [ES] \quad (2.6)$$

Dalam keadaan keseimbangan, maka kecepatan pembentukan ES sama dengan kecepatan penguraian ES, jadi:

$$k_1 ([E_0] - [ES]) [S] = k_2 [ES] + k_3 [ES]$$

atau

$$k_1 ([E_0] - [ES]) [S] = (k_2 + k_3) [ES] \quad (2.7)$$

sehingga:

$$\frac{([E_0] - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_m \quad (2.8)$$

K_m adalah konstanta Michaelis-Menten

Dari persamaan (2.8) dapat diperoleh konsentrasi kompleks enzim substrat sebagai berikut:

$$[ES] = \frac{[E_0] [S]}{K_m + [S]} \quad (2.9)$$

Kecepatan permulaan terjadinya hasil reaksi P sebanding dengan konsentrasi ES atau:

$$V = k_3 [ES] \quad (2.10)$$

Apabila konsentrasi substrat sangat besar sehingga semua enzim membentuk kompleks enzim-substrat, maka kecepatan reaksi adalah maksimal dan dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$V_{maks} = k_3 [E_0] \quad (2.11)$$

Harga $[ES]$ dalam persamaan (2.9) dimasukkan ke dalam persamaan (2.10), maka diperoleh:

$$V = k_3 \frac{[E_0] [S]}{K_m + [S]} \quad (2.12)$$

Dengan jalan memasukkan persamaan (2.11) ke dalam persamaan (2.3), maka diperoleh:

$$V = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]} \quad (2.13)$$

(Poedjiadi dan Titin, 2007).

E. Spektrofotometer UV-Vis

Pengukuran menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis ini didasarkan pada hubungan antara berkas radiasi elektromagnetik yang ditransmisikan (diteruskan) atau yang diabsorpsi dengan tebalnya cuplikan dan konsentrasi dari komponen penyerap. Berdasarkan hal inilah, maka untuk mengetahui konsentrasi sampel berdasarkan data serapan (A) sampel, perlu dibuat suatu kurva kalibrasi yang menyatakan hubungan antara berkas radiasi yang diabsorpsi (A) dengan konsentrasi (C) dari serangkaian zat standar yang telah diketahui. Adapun perhitungannya dilakukan dengan menggunakan aplikasi sistem persamaan linier yang merupakan pemodelan atau adaptasi hukum Lambert-Beers (Henry *dkk*, 2002).

Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Penggunaan untuk analisa kuantitatif didasarkan pada hukum Lambert-Beers yang menyatakan hubungan empirik antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan (Hukum Lambert / Bouguer), dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat. Panjang gelombang yang digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif suatu zat biasanya merupakan panjang gelombang dimana zat yang bersangkutan memberikan serapan yang maksimum (λ maks), sebab keakuratan pengukurannya akan lebih besar. Hal tersebut dapat terjadi karena pada panjang gelombang maksimum (λ maks) bentuk serapan pada umumnya turun sedikit demi sedikit sehingga perubahan yang tidak terlalu besar pada kurva serapan tidak akan menyebabkan kesalahan pembacaan yang terlalu besar pula (dapat diabaikan) (Henry *dkk*, 2002).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Juni 2017 di Laboratorium Kimia Fisika Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-vis, waterbath, sentrifuge, *sieve shaker* (ayakan), vortex, pH meter, oven, desikator, kompor listrik, neraca analitik, blender, mikro pipet, cawan porselin, alat-alat gelas dan pisau.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil, aquades (H_2O), aquabidest (H_2O), asam klorida (HCl) 2M, asam sulfat (H_2SO_4) p.a, dimetil sulfoksida (DMSO), enzim α -amilase dan glucoamilase, etanol (C_2H_5OH) 80%, fenol (C_6H_5OH) 5%, kertas saring, natrium hidroksida ($NaOH$), padatan glukosa p.a.

C. Prosedur Kerja

Prosedur kerja pada penelitian ini yaitu:

1. Preparasi Sampel

Kulit biji alpukat dikupas, lalu dicuci dengan menggunakan air bersih kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan menggunakan pisau (Lubis, 2008).

2. Pembuatan Pati

Biji alpukat yang telah dipotong-potong kecil dihaluskan dengan menggunakan blender dengan penambahan air. Dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain saring untuk mengambil pati dari dalam jaringan. Apabila endapan telah terbentuk, air bening di atasnya dibuang secara pelan-pelan agar tidak ada pati yang terbang. Ampas biji alpukat dicuci sebanyak 3 kali dengan aquadest, sedangkan suspensi yang diperoleh diendapkan selama 24 jam. Setelah terpisah, endapan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Pati yang diperoleh kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar dan stamper kemudian diayak pada 100 mesh (Lubis, 2008).

3. Penentuan kadar air

Menyiapkan cawan porselin kemudian memanaskan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C dan mendinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian menimbang bobot konstan cawan. Selanjutnya mengisi cawan dengan serbuk biji alpukat lalu menimbang bobot awal dan memanaskan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C dan mendinginkan dalam desikator selama 15 menit. Selanjutnya menimbang bobot akhir kemudian menentukan kadar air sampel (Endang, 2014).

4. Penentuan kadar pati

a. Penetapan gula BM rendah yang hilang

Menimbang tepung biji alpukat hasil penentuan kadar air sebanyak 10 gram kemudian melarutkan ke dalam etanol 80% pada suhu sekitar 40°C dan mendinginkan secara perlahan hingga terbentuk endapan, selanjutnya menyaring menggunakan kertas saring yang telah diketahui bobot awalnya, kemudian memanaskan residu bersamaan dengan kertas saring selama 3 jam pada suhu 80°C

sampai kering. Selanjutnya mendinginkan ke dalam desikator selama 30 menit dan menimbang bobot akhirnya selanjutnya menentukan gula BM rendah yang hilang dari tepung biji alpukat.

b. Penentuan kandungan pati

Menimbang 0,1 gram residu hasil perlakuan etanol 80% (duplo) ke dalam 2 tabung reaksi, kemudian menambahkan 5 mL DMSO (Dimetil Sulfoksida). Selanjutnya memasukkan semua sampel dalam penangas air (dengan kondisi air mendidih) selama 20 menit lalu divorteks. Setelah larutan dingin dan endapan terbentuk, mengambil cairannya (tanpa endapan) kemudian mensentrifus dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Menempatkan supernatant ke dalam labu ukur 50 mL dan mengencerkan dengan aquabidest. Selanjutnya mengencerkan kembali sebanyak 10 kali dan mengocok sempurna, melanjutkan dengan uji gula total (TS).

c. Pembuatan larutan induk, larutan baku dan deret standar glukosa 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm

Menimbang 0,1 gram padatan glukosa p.a kemudian melarutkan dan mengencerkan dengan aquabidest hingga 100 mL lalu menghomogenkan (larutan induk 1000 ppm). Selanjutnya mengambil 50 mL larutan induk 1000 ppm kemudian mengencerkan hingga 100 mL (larutan baku 500 ppm). Memipet lagi masing-masing 3, 6, 9, 12 dan 15 mL dari larutan baku 500 ppm kemudian mengencerkan ke dalam labu takar 100 mL (deret standar 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm).

d. Pembuatan kurva standar glukosa 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm

Memipet masing-masing 1 mL larutan standar glukosa 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm ke dalam tabung reaksi tertutup dan merendam ke dalam air dan menambahkan masing-masing 1 mL larutan fenol 5% dan 5 mL H_2SO_4 pekat p.a

kemudian merendam kembali selama 10 menit lalu mengocok dengan vortex mixer selama 5 menit dan membiarkan selama 20 menit selanjutnya mengukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{max} 485 nm (Endang, 2014).

5. Hidrolisis Pati

a. Proses Likuifikasi

Menimbang 30 gram pati kemudian ditambahkan 250 mL aquades. Larutan pati yang dihasilkan kemudian diatur pHnya sampai 6,5 dengan menambahkan NaOH 1%, dipanaskan sampai suhu 95°C. Kemudian ditambahkan enzim α -amilase sebanyak 0,04 g selama 60 menit (Risnoyatiningsih, 2011).

b. Proses Sakarifikasi

Hasil likuifikasi didinginkan dan diatur pHnya 4,5 dengan menambahkan HCl 2M. Ditambahkan enzim glukamilase dengan volume 0,022 mL. Dipanaskan sampai suhu 60°C dengan waktu hidrolisis (24, 48, 72, 96 dan 120) jam (Risnoyatiningsih, 2011).

6. Analisis Glukosa Hasil Hidrolisis

Memipet 0,2 mL ekstrak glukosa kental 25 mL (duplo) menggunakan pipet mikro dan mengencerkan hingga 250 mL aquabidest (50 x Fp) dan menghomogenkan selanjutnya mengambil masing-masing 1 mL larutan glukosa tersebut dan memasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup dan merendam ke dalam air dan menambahkan masing-masing 1 mL larutan fenol 5% dan 5 mL H₂SO₄ pekat (p.a) kemudian merendam kembali selama 10 menit lalu mengocok dengan vortex mixer selama 5 menit dan membiarkan selama 20 menit selanjutnya mengukur absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{max} 485 nm (Endang, 2014).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Penentuan kandungan pati

Biji alpukat diekstrak patinya dengan cara dihaluskan, kemudian diperas dan diendapkan, hasil endapan yang diperoleh kemudian dioven, digerus dan diayak untuk menghasilkan pati dengan ukuran yang sama. Pati yang diperoleh dianalisis kadar airnya, kadar gula BM rendah yang hilang serta kadar patinya. Hasil yang diperoleh pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data hasil analisis kandungan pati

Analisis Pati	Hasil
Bobot ayakan 100 mesh/(g)	150,7896
Kadar air (%)	8,49
Kadar gula BM rendah yang hilang (%)	9,29
Kadar pati (%)	22,82

Larutan standar glukosa diukur absorbansinya dengan UV-Vis dengan panjang gelombang max. 485 nm. Hasil yang diperoleh disajikan pada tabel 4.2.

Tabel 4.2. Absorbansi Standar Glukosa

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
1	0	0,0691
2	15	0,1261
3	30	0,2294
4	45	0,4038
5	60	0,5003
6	75	0,6661

Sampel diinjek setiap hari selama 5 hari untuk melihat absorbansinya, hasil yang diperoleh kemudian dihitung konsentrasi glukosa dan kadar glukosa yang terdapat pada pati biji alpukat. Hasil yang diperoleh disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Data hasil hidrolisis pati biji alpukat variasi waktu

No.	Waktu (jam)	Absorbansi	Konsentrasi glukosa (ppm)	Kadar glukosa (% berat)
1	24	0,1004	9,0000	1,50
2	48	0,1334	13,0243	2,17
3	72	0,1513	15,2073	2,53
4	96	0,1570	15,9024	2,65
5	120	0,1810	18,8292	3,13

Berdasarkan hasil kadar glukosa terbentuk (% berat), maka dapat ditentukan pati bereaksi, pati sisa serta konversi pati yang disajikan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Data hasil hidrolisis pati biji alpukat menggunakan katalisator enzim

Hasil Hidrolisis Pati	Waktu (jam)				
	24	48	72	96	120
Kadar glukosa terbentuk (% berat)	1,50	2,17	2,53	2,65	3,13
Pati bereaksi (%)	6,57	9,50	11,08	11,61	13,11
Pati sisa (%)	16,25	13,32	11,74	11,21	9,11
Konversi Pati (%)	28,79	41,63	48,55	50,87	60,07

2. Penetapan orde reaksi dan konstanta laju reaksi hidrolisis pati biji alpukat

1). Orde I

Metode grafik pada orde satu ditentukan dari hasil pati sisa [A] kemudian dihitung $\ln[A]$, yang disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4. 5. Data Penetapan Orde I

No.	t (jam)	[A]	ln [A]
1	24	16,25	2,7880
2	48	13,32	2,5892
3	72	11,74	2,4630
4	96	11,21	2,4168
5	120	9,11	2,2093

2). Orde II

Metode grafik pada orde satu ditentukan dari hasil pati sisa [A] kemudian dihitung $1/[A]$, yang disajikan pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Data Penetapan Orde II

No.	t (jam)	[A]	$1/[A]$
1	24	16,25	0,0615
2	48	13,32	0,0750
3	72	11,74	0,0851
4	96	11,21	0,0892
5	120	9,11	0,1097

3. Penentuan Kinetika Enzimatik Pati Biji Alpukat**Tabel 4.7. Data kinetika enzimatik pengalihan persamaan Michaelis-Menten**

[S] (%)	22,82
V (%/jam)	-0,0099
$1/[S]$	0,0438
$1/v$	-101,0101

B. Pembahasan

1. Ekstraksi Pati

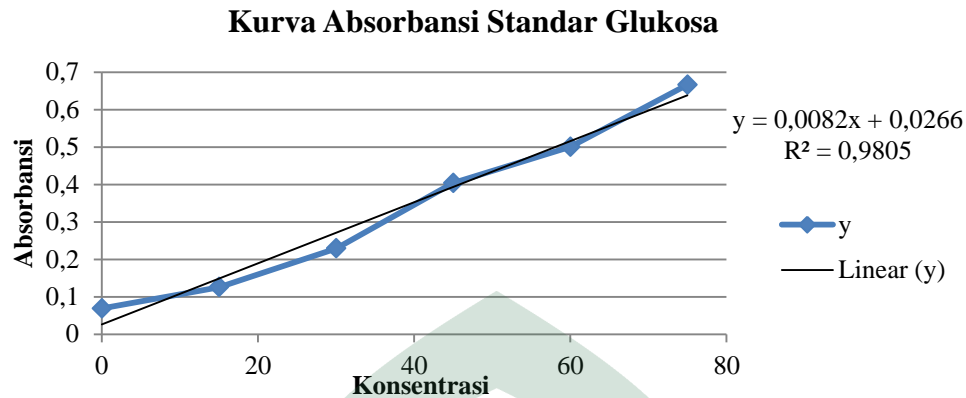
Ekstraksi pati biji alpukat diawali dengan preprasi sampel. Biji alpukat dikupas kulitnya dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk memperluas permukaan biji alpukat. Luas permukaan akan mempengaruhi kecepatan reaksi karena semakin luas permukaan maka dapat memperbesar kesempatan terjadinya tumbukan antar partikel. Biji alpukat yang telah halus kemudian diendapkan. Pati dalam biji alpukat dapat terekstrak ketika proses pengendapan dalam larutan. Larutan pengeksrak akan berdifusi masuk ke dalam granula pati, kemudian komponen-komponen dalam biji alpukat berdifusi keluar akibat adanya energi yang mendorong komponen tersebut keluar dari biji. Proses ini terjadi hingga konsentrasi pada permukaan biji sama dengan konsentrasi pada larutan perendam. Proses ekstraksi ini dilakukan dalam suhu kamar, bila proses ekstraksi dilakukan di atas suhu 50°C , akan menyebabkan terjadinya proses gelatinisasi sehingga struktur pati tersebut rusak dan mengurangi perolehan pati (Chandra *dkk*, 2013). Pati kemudian dikeringkan menggunakan oven dan diayak dengan ukuran 100 mesh. Hasil ayakan tepung pati biji alpukat yaitu sebesar 150,7896 gram, hasil yang diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut untuk menentukan data kinetika reaksi hidrolisis pati biji alpukat.

Kadar air perlu ditetapkan karena akan mempengaruhi daya simpan bahan. Makin tinggi kadar air suatu bahan maka makin besar pula bahan tersebut rusak atau tidak tahan lama. Proses pengeringan sangat berpengaruh terhadap kadar air yang dihasilkan. Pengeringan pada pati mempunyai tujuan untuk mengurangi kadar air sehingga pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim penyebab kerusakan pada pati

dapat dihambat. Berdasarkan hasil penentuan kadar air (Lampiran 4), tepung biji alpukat mempunyai kadar air sebesar 8,49%, kadar air yang diperoleh tidak berbeda jauh dari teori yang menyatakan bahwa kadar air yang terkandung dalam biji buah alpukat yaitu sebesar 10,2% (Halimah *dkk*, 2014). Standar mutu pati menurut standar industri Indonesia untuk nilai kadar air adalah maksimum 14% (Chandra *dkk*, 2013), sehingga kadar air pati yang dihasilkan secara garis besar masih memenuhi syarat standar industri Indonesia pati. Tahap berikutnya yaitu perlakuan dengan etanol 80% yang bertujuan untuk melarutkan gula berbobot molekul (BM) rendah agar yang tersisa hanya pati dan serat-serat lainnya. Etanol 80% digunakan karena etanol bersifat polar sehingga dapat melarutkan gula atau senyawa-senyawa yang polar dan mempunyai bobot molekul yang rendah pula yang saling berdekatan dengan etanol. Berdasarkan penelitian kandungan berbobot molekul rendah yang hilang (Lampiran 5) yaitu sebesar 9,29%. Tahapan selanjutnya yaitu penentuan kandungan pati dengan larutan dimetilsulfoksida (DMSO) yang bertujuan untuk melarutkan pati dan merupakan salah satu pelarut non polar yang umum digunakan.

2. Penentuan Kandungan Pati dan Hidrolisis Pati Biji Alpukat

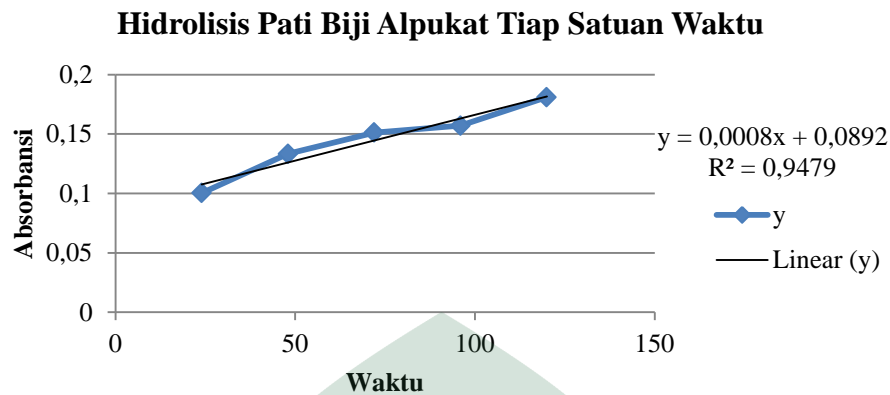
Pada proses hidrolisis pati, waktu memiliki peranan penting karena semakin lama waktu hidrolisis maka semakin besar konversi glukosa yang diperoleh. Pada penelitian ini digunakan variasi waktu (24, 48, 72, 96 dan 120) jam. Hasil absorbansi larutan standar dapat dilihat pada gambar 4.1



Gambar 4.1. Kurva Absorbansi Standar Glukosa

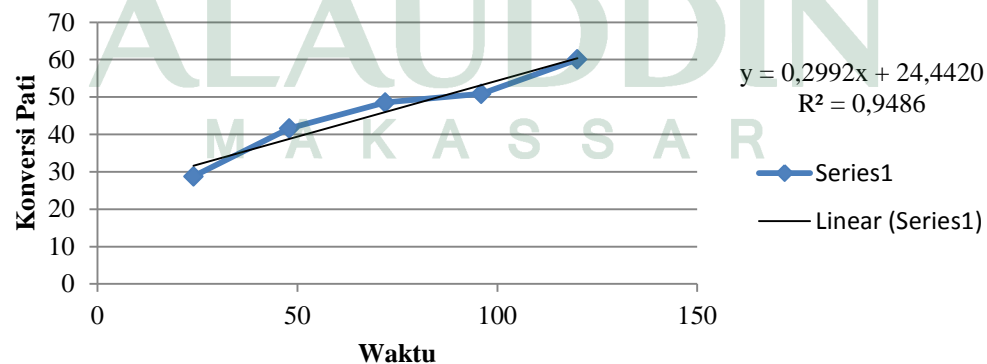
Pada gambar 4.1 menunjukkan nilai $y = 0,0082x + 0,0266$ yang digunakan dalam menentukan nilai total sugar (TS) (Lampiran 6) sehingga dapat ditentukan kadar pati biji alpukat. Kandungan pati biji alpukat yang diperoleh yaitu sebesar 22,82% (Lampiran 6). Padahal secara teori tepung biji alpukat kering memiliki kandungan pati sebesar 59,87% (Leroy dalam Chandra dkk, 2013), hal ini menunjukkan bahwa dalam tepung biji alpukat terdapat banyak serat-serat kasar yang tidak mengalami proses ekstraksi sempurna dengan pelarut DMSO dan juga karena teknik preparasi yang kurang sempurna dalam menentukan kadar suspensi pati yang tinggi. Penentuan kandungan pati ini bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak pati yang terkonversi menjadi glukosa dengan menggunakan katalisator enzim α -amilase dan glukomilase.

Kadar glukosa yang terbentuk dapat ditentukan melalui analisis kuantitatif glukosa dengan metode asam fenol sulfat. Hasil analisis kuantitatif glukosa dengan metode asam fenol sulfat disajikan dalam tabel 4.3, berdasarkan tabel 4.3 dan gambar 4.2 dapat diketahui bahwa waktu memiliki pengaruh terhadap kadar glukosa yang dihasilkan.



Gambar 4.2. Kurva Absorbansi Versus Waktu

Pada gambar 4.2 dapat dilihat bahwa nilai absorbansi terendah yaitu pada waktu 24 jam, sedangkan nilai absorbansi tertinggi pada waktu 120 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kadar pati pada biji alpukat yang diperoleh tiap satuan waktu semakin meningkat. Kadar glukosa (% berat) yang diperoleh juga semakin meningkat (Lampiran 7). Bertambahnya glukosa yang diperoleh karena semakin lama hidrolisis dilakukan, maka terjadinya kesempatan tumbukan antara molekul-molekul air dan molekul-molekul pati akan semakin lama sehingga menghasilkan glukosa yang semakin banyak (Endang, 2013). Dari hasil kadar glukosa (% berat) yang diperoleh tiap satuan waktu maka dapat diketahui pati bereaksi dan pati sisa yang diperoleh (Lampiran 8), dari perhitungan tersebut dapat juga diketahui berapa persen pati yang terkonversi menjadi glukosa tiap satuan waktu yang dapat dilihat pada gambar 4.3.



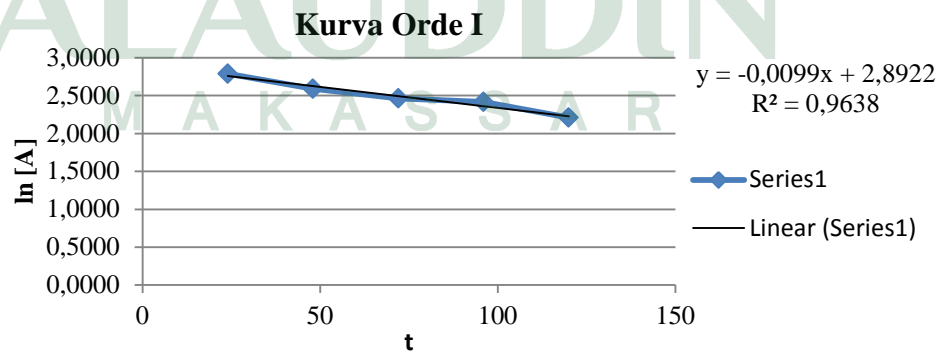
Gambar 4.3. Kurva Konversi Pati Versus Waktu

Pada gambar 4.3 dapat dilihat bahwa konversi pati terendah pada waktu 24 jam yaitu sebesar 28,79% dan yang tertinggi yaitu pada waktu 120 jam sebesar 60,07%, hal ini membuktikan bahwa pati yang terkonversi menjadi glukosa akan semakin meningkat seiring bertambahnya waktu. Hal ini disebabkan jika waktu bertambah maka kesempatan bertumbukan antara zat-zat yang bereaksi akan semakin besar (Iryani, 2013).

3. Penentuan Orde Reaksi dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Pati Biji Alpukat

Penentuan orde reaksi dan konstanta laju hidrolisis pati biji alpukat ditentukan melalui hubungan waktu reaksi dan konversi pati yang diperoleh. Penentuan orde reaksi dan konstanta laju reaksi diperoleh dengan menggunakan dua metode, yaitu metode grafik dan substitusi. Metode grafik diperoleh dari hubungan konsentrasi $[A]$ dengan waktu hidrolisis, sedangkan metode substitusi diperoleh dari rumus persamaan orde satu dan orde dua.

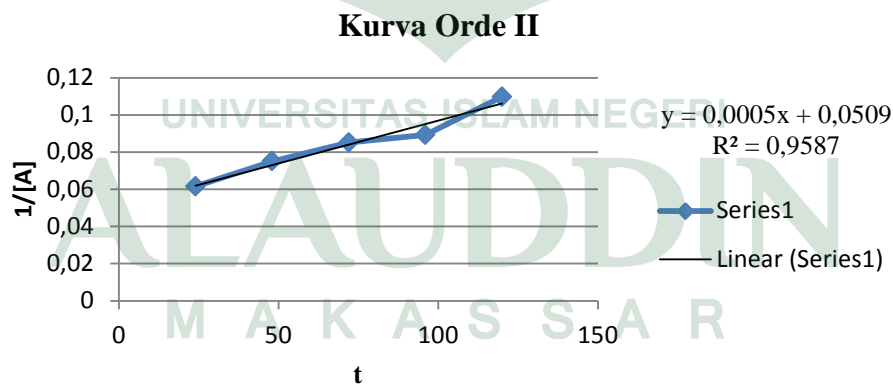
Reaksi orde I memberikan gambaran tentang perubahan $[A]$ dan laju reaksi yang semakin menurun seiring dengan perubahan waktu. Penetapan orde I metode grafik dilakukan dengan memplotkan nilai $\ln[A]$ versus waktu yang dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4. Kurva $\ln[A]$ Versus Waktu

Pada gambar 4.4 diperoleh nilai $R^2 = 0,9638$ dengan tingkat kepercayaan mencapai 96%. Nilai R^2 tersebut menjelaskan bahwa reaksi hidrolisis yang terjadi mengikuti teori dasar dari reaksi orde I yang menunjukkan terjadinya penurunan $[A]$ dan laju reaksi secara signifikan. Berdasarkan lampiran 9, menunjukkan nilai konstanta laju yang diperoleh yaitu sebesar $0,0099 \text{ jam}^{-1}$. Konstanta laju reaksi (k) merupakan nilai yang menyatakan perbandingan laju reaksi. Nilai k yang semakin besar artinya laju reaksi tersebut makin besar juga, nilai k dipengaruhi oleh orde reaksi. Persamaan kinetika yang telah diperoleh dengan metode substitusi, kemudian divalidasi dengan cara melihat nilai regresi linearnya. Semakin besar nilai regresi linear atau mendekati 1, maka persamaan kinetika tersebut cocok untuk data yang diperoleh (Solichin, 2011).

Penentuan orde II dengan metode grafik yaitu menggunakan hubungan konsentrasi kadar pati sisa ($1/[A]$) dengan waktu hidrolisis. Dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.5. Kurva $1/[A]$ versus waktu

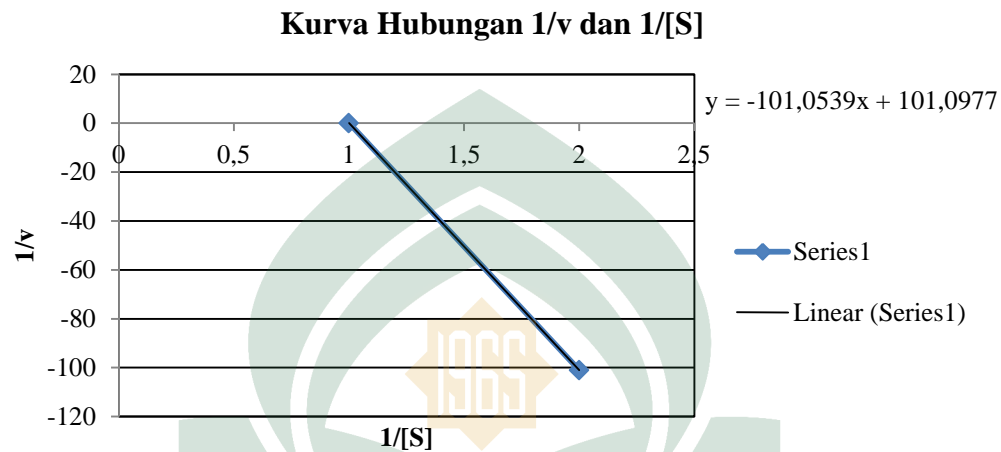
Pada gambar 4.5 diperoleh nilai regresi yaitu sebesar 0,9587, dalam hal ini tingkat kepercayaannya adalah 95%. Sedangkan penentuan orde reaksi metode

substitusi dengan menggunakan persamaan orde II yaitu $1/[A] = kt + 1/[A]_0$ diperoleh nilai konstanta laju = $0,0005 \text{ jam}^{-1}$ (Lampiran 9). Hal ini menunjukkan bahwa nilai regresi pada orde II lebih rendah daripada nilai regresi orde I. Sehingga dapat dikatakan bahwa orde reaksi hidrolisis pati biji alpukat mengikuti orde reaksi I karena nilai regresi yang diperoleh jauh lebih besar dan mendekati 1. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa orde reaksi dikatakan mengikuti orde 1 apabila konsentrasi sebanding dengan laju, dan apabila nilai koefisien korelasi yang diperoleh dari persamaan regresi linear antara waktu dengan $1/\text{konsentrasi sisa}$ mendekati 1 (Laksmiani *dkk*, 2015).

4. Penentuan Kinetika Enzimatik

Penambahan enzim sangat berpengaruh terhadap kadar glukosa yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena fungsi dari enzim α -amilase yang bekerja menghidrolisis ikatan α -1,4 secara acak dibagian dalam molekul baik pada amilosa maupun amilopektin, serta fungsi dari enzim glukamilase yang memutuskan rantai cabang (α -1,6) yang tidak terputus oleh enzim α -amilase menjadi glukosa (monosakarida), di dukung dengan keadaan pH 4,5 dan suhu 60°C , merupakan keadaan terbaik bagi aktivitas enzim glukamilase untuk merubah karbohidrat menjadi glukosa. Semakin lama waktu hidrolisis pati menjadi glukosa, maka semakin meningkat kadar glukosanya. Hal ini disebabkan karena waktu kontak antara enzim dan pati sangat lama, dengan menjaga pH dan suhu pada kondisi yang terbaik, enzim tidak rusak dan dapat melakukan aktivitasnya dengan baik (Risnoyatiningsih, 2010). Kinetika enzimatik hidrolisis pati biji alpukat ditentukan untuk mengetahui afinitas enzim-substrat yang diperoleh dari penyederhanaan persamaan Michaelis-Menten

(Lampiran 10). Pembuatan grafik ditentukan dengan memplotkan nilai $1/v$ dan $1/[S]$ yang disajikan pada gambar 4.5.



Gambar 4. 5. Kurva Hubungan antara $1/v$ dan $1/[S]$

Pada gambar 4.5, diperoleh persamaan linear $y = -101,0539x + 101,0977$ sehingga nilai $V_{maks} = 0,0098$ dan $K_m = -0,9903$ (Lampiran 10). Konstanta Michaelis-Menten (K_m) menggambarkan kesetimbangan disosiasi kompleks ES menjadi enzim dan substrat. Nilai K_m kecil berarti enzim mempunyai afinitas tinggi terhadap substrat maka kompleks ES sangat baik, sehingga kesetimbangan reaksi kearah kompleks ES. Apabila nilai K_m besar berarti enzim mempunyai afinitas rendah terhadap substrat, sehingga kesetimbangan reaksi kearah $E + S$ (Anam, 2010). Nilai K_m (Konstanta Michaelis-Menten) dapat digunakan untuk memperkirakan jumlah substrat. Dengan mengetahui nilai K_m dan V_{maks} suatu enzim, maka dapat dilakukan optimalisasi penggunaan enzim tersebut sebagai biokatalisator dalam reaksi pemecahan substrat menjadi produk (Ratnayani, 2015).

Nilai K_m yang diperoleh pada penelitian ini adalah -0,9903, nilai ini termasuk kecil sehingga enzim yang digunakan mempunyai afinitas yang tinggi terhadap substrat. Nilai V_{maks} yang diperoleh menunjukkan kecepatan maksimum enzim sebesar 0,0098% yang artinya pada kondisi optimum, enzim yang digunakan dapat mengubah substrat menjadi glukosa sebesar 0,0098% per jam.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Hidrolisis pati biji alpukat mengikuti orde I dengan tingkat kepercayaan yaitu sebesar 96% dengan nilai konstanta laju yang diperoleh yaitu sebesar $k = 0,0099 \text{ jam}^{-1}$.
2. Kinetika reaksi enzimatis hidrolisis pati biji alpukat menghasilkan $V_{\text{maks}} = 0,0098\%/jam$ dan $K_m = -0,9903$.

Penelitian ini membuktikan bahwa pati biji alpukat dapat digunakan untuk pembuatan glukosa, hal ini sesuai dengan surah Asy-Syu'araa/26; 7-8 bahwa setiap yang diciptakan oleh Allah swt. tidak sia-sia, baik itu, buah, bunga daun bahkan bijinya. Sesungguhnya apa yang telah diciptakan oleh Allah swt. mempunyai hikmah yang sangat besar bagi setiap makhluk-Nya.

B. Saran

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan melakukan variasi pada volume enzim glukamilase yang digunakan agar dapat diketahui bagaimana pengaruh dari setiap penambahan enzim dengan volume berbeda pada substrat.

DAFTAR PUSTAKA

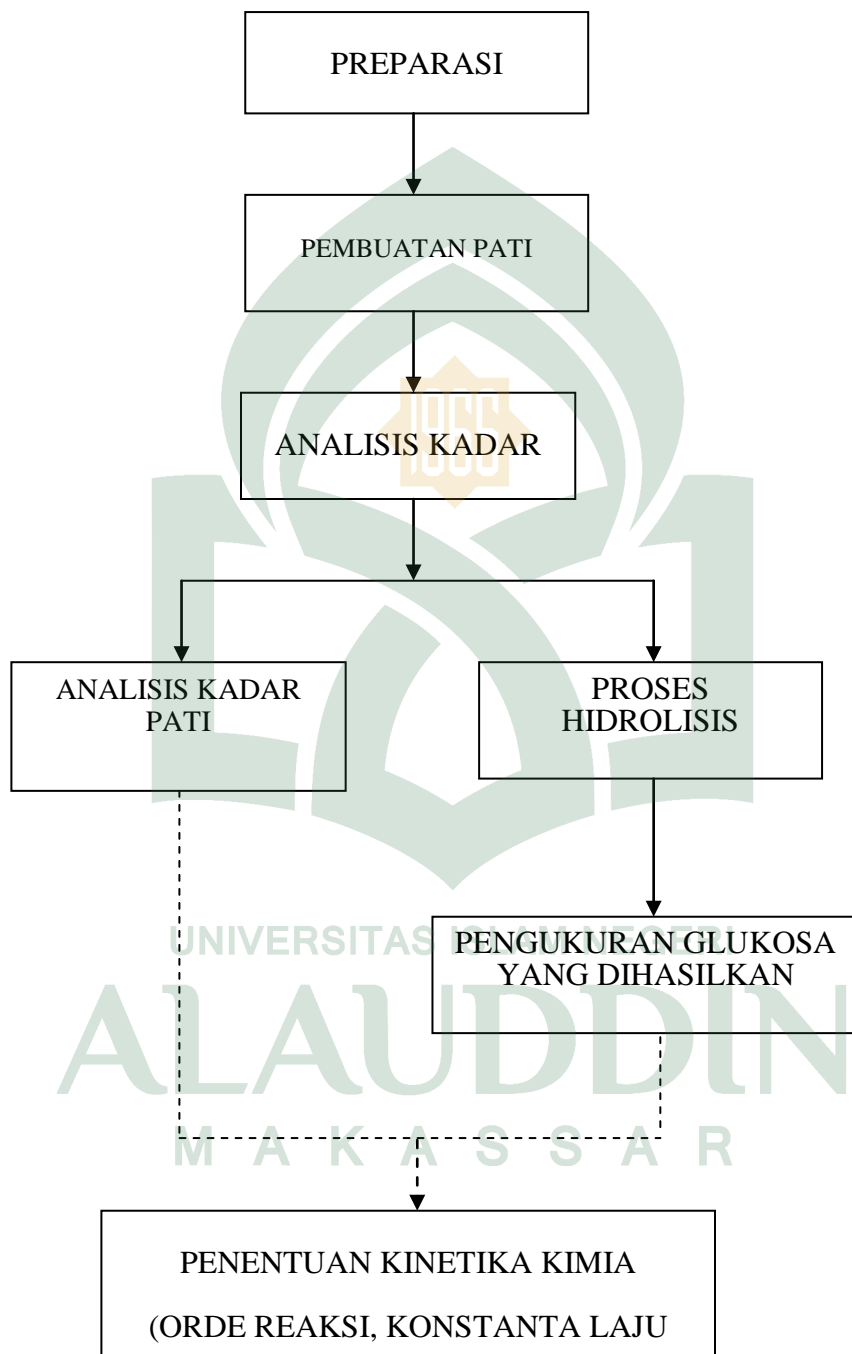
Al-Qur'an Al-Karim

- Albaasith dkk. "Pembuatan Sirup Glukosa dari Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminatabalbisianacolla*) secara Enzimatis". *Teknik Kimia USU* 3, no. 2 (2014): h. 15-18.
- Ali, Yuliatin. "Biji Mangga Sebagai Bahan Baku Produksi Dekstrin". *Penelitian Ilmu Teknik* 10, no. 1 (2010): h. 6-10.
- Anam, "Kinetika Reaksi Enzimatis". *Rekayasa Bioproses IPB* (2010): h. 1-8.
- Anugrahini, Sarah Fitria Agung dkk. "Kinetika Reaksi Hidrolisis Pati Biji Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Menjadi Glukosa dengan Variasi Temperatur dan Waktu". *Kimia Studentjournal* 2, no. 1 (2013): h. 344-350.
- Chandra, Andy dkk. "Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat". *Skripsi*. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan, 2013.
- Chang, Raymond. *Kimia Dasar Konsep-Konsep Inti*. Jakarta: Erlangga, 2004.
- Endang, Sri dkk. "Kinetika Hidrolisis Pati Biji Nangka (*Artocarpus Heterophyllus*) Menggunakan Katalisator Asam Klorida (HCl)". *Al-Kimia* (2013): h. 11-24.
- Fairus dkk. "Pengaruh Konsentrasi HCl dan Waktu Hidrolisis terhadap Perolehan Glukosa yang Dihasilkan dari Pati Biji Nangka". *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*. ISSN 1693-4393 (2010): h. 1-6.
- Goivanni, Jonathan. "Variasi Waktu dan Enzim α -amilase pada Hidrolisis Pati Sukun (*Artocarpus altilis* Park.)". *Skripsi*. Yogyakarta: Jurusan Biologi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya, 2014.
- Halimah dkk. "Pengolahan Limbah Biji Alpukat Untuk Pembuatan Dodol Pati sebagai Alternatif Pengobatan Ginjal". *Ilmiah Mahasiswa* 4, no. 1 (2014): h. 32-37.
- Henry, Arthur dkk. "Analisis Spektrofotometri UV-Vis Pada Obat Influenza dengan Menggunakan Aplikasi Sistem Persamaan Linear". *KOMMIT* (2002): h. 1-11.
- Indra dan Retno. "Kinetika Reaksi Hidrolisa Pati dari Kulit Nangka dengan Katalisator Asam Chlorida Menggunakan Tangki Berpengaduk". *Teknik Kimia Soebardjo Brotohardjono*. ISSN 1978-0427 (2010): h. 1-9.
- Iryani, A. Sri, "Pengaruh Jenis Katalisator Terhadap Studi Kinetika Proses Hidrolisis Pati Dalam Ubi Kayu". *ILTEK* 8, no. 15 (2013): h. 1078-1081.
- Kementerian Agama Republik Indonesia. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bandung: SYGMA Creative Media Corp, 2014.

- Kristianingrum, Susila. "Kinetika Kimia". *Workshop Guru Bidang Studi Kimia*. Sidoarjo, 2003.
- Laksmiani, dkk, "Stabilitas Formalin Terhadap Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan". *Jurnal Farmasi Udayana* 4, no. 2 (2015): h. 76-81.
- Laksmiani, N.P.L dkk. " Stabilitas Formalin Terhadap Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan". *Farmasi Udayana* 4, no. 2 (2015): h. 76-81.
- Lubis, Linda Masniary. "Ekstraksi Pati dari Biji Alpukat". *Karya Ilmiah*. Medan: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, 2008.
- Mahreni dan Endang Sulistyowati. "Pembuatan High Fructose Syrup dari Tepung Maizena Secara Enzimatis". *Prosiding SNTPK*. ISSN 1978 -0427 (2004): h. 7-15.
- Malangngi, Liberty P dkk. "Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)". *MIPA UNSRAT ONLINE* Manado 1, no. 1 (2012): h. 5-10.
- Mastuti, Endang dan Dwi Ardiana Setyawardhani. "Pengaruh Variasi Temperatur dan Konsentrasi Katalis pada Kinetika Reaksi Hidrolisis Tepung Kulit Ketela Pohon". *Ekuilibrium* 9, no. 1 (2010): h. 23-27.
- Muin, Rosdiana dkk. "Pengaruh Konsentrasi Asam Sulfat dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol yang Dihasilkan dari Biji Alpukat". *Teknik Kimia* 20, no. 4 (2014): h. 1-7.
- Poedjiadi, Anna dan F.M. Titin Supriyanti. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press, 2007.
- Putri, Nia Ariani. "Sifat Rheologi MOCAL (Modified Cassava Flour) dan Tapioka dengan Variasi pH". *Skripsi*. Jember: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, 2015.
- Rahmawati, Atik dan Yunianta. "Hidrolisis Enzimatis Pati Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dengan Enzim Alfa Amilase (Kajian Pengaruh Konsentrasi Enzim dan Lama Inkubasi Terhadap Sifat Fisik dan Kimia Dekstrin. *Pangan dan Agroindustri* 3, no. 3 (2015): h. 1252-1262.
- Rahmayanti, Dian. "Pemodelan dan Optimasi Hidrolisa Pati Menjadi Glukosa dengan Metode *Artificial Neural Network-Genetic Algorithm* (ANN-GA)". *Skripsi*. Semarang: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, 2010.
- Ratnayani, dkk. "Penentuan Laju Reaksi Maksimal (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis-Menten (K_m) Enzim Lipas Pankeas pada Substrat Minyak Kelapa, Minyak Sawit dan Minyak Saitun". *Kimia* 9, no.1 ISSN 1907-9850 (2015): h.93-97.
- Retno, Endah dkk. "Pengaruh Konsentrasi Katalis Enzim Glukoamilase (*Aspergillus niger*) terhadap Konsentrasi Produk Glukosa pada Kinetika Reaksi Simultan Oksidasi dan Fermentasi Bioetanol dari Sorgum (*Sorghum bicolor* L.)". *Ekuilibrium* 10, no. 1 (2011): h. 43-48.

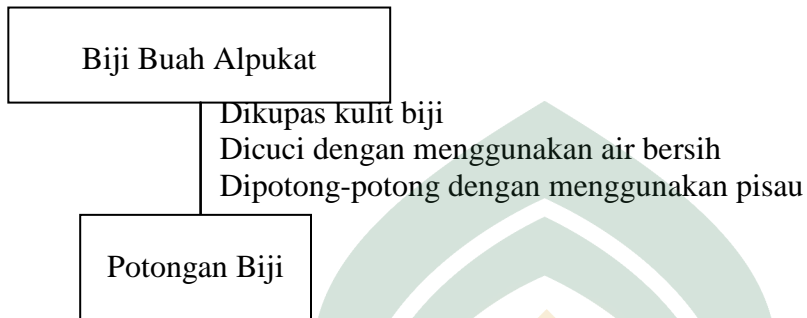
- Risnoyatiningsih, Sri. "Hidrolisis Pati Ubi Jalar Kuning Menjadi Glukosa secara Enzimatis". *Teknik Kimia* 5, no. 2 (2011): h. 417-424.
- Robi'a dan Aji Sutrisno. "Karakteristik Sirup Glukosa dari Tepung Ubi Ungu (Kajian Suhu Likuifikasi dan Konsentrasi α -amilase)". *Pangan dan Agroindustri* 3, no. 4 (2015): h. 1531-1537.
- Saraswati dkk. "Pembuatan Glukosa secara Enzimatis dari Bahan Baku Pati Sagu". *Jurnal Teknik Kimia Indonesia* 3, no. 1 (2004): h. 56-63.
- Shihab, M. Quraish. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati, 2008.
- Solichin, Ardan, "Identifikasi Laju Reaksi Penyisihan Linear Alkylbenzene Sulfonat, Amonia, Besi dan Mangan Melalui Proses Hibrida Ozonisasi Dan Teknologi Membran". *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia, 2011.
- Sutikno. "Pengaruh Pemblansiran Irisan Buah Sukun (*Artocarpus communis*) terhadap Pencoklatan dan Kadar Pati". *Skripsi*. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, 2008.
- Zulhida, Rahmi dan Hery Sugiarto Tambunan. "Pemanfaatan Biji Alpukat (*Persea americana mill*) sebagai Bahan Pembuatan Pati". *Agrium* 18, no. 2 (2013): h. 144-148.

Lampiran 1. Bagan Alir Prosedur Penelitian



Lampiran 2. Bagan Alir Prosedur Kerja

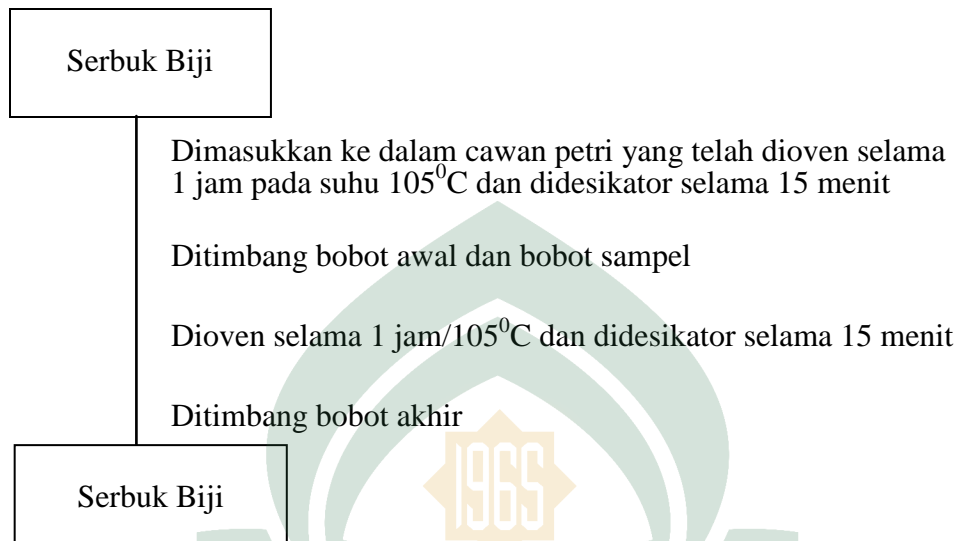
a. Preparasi Sampel



b. Pembuatan Pati

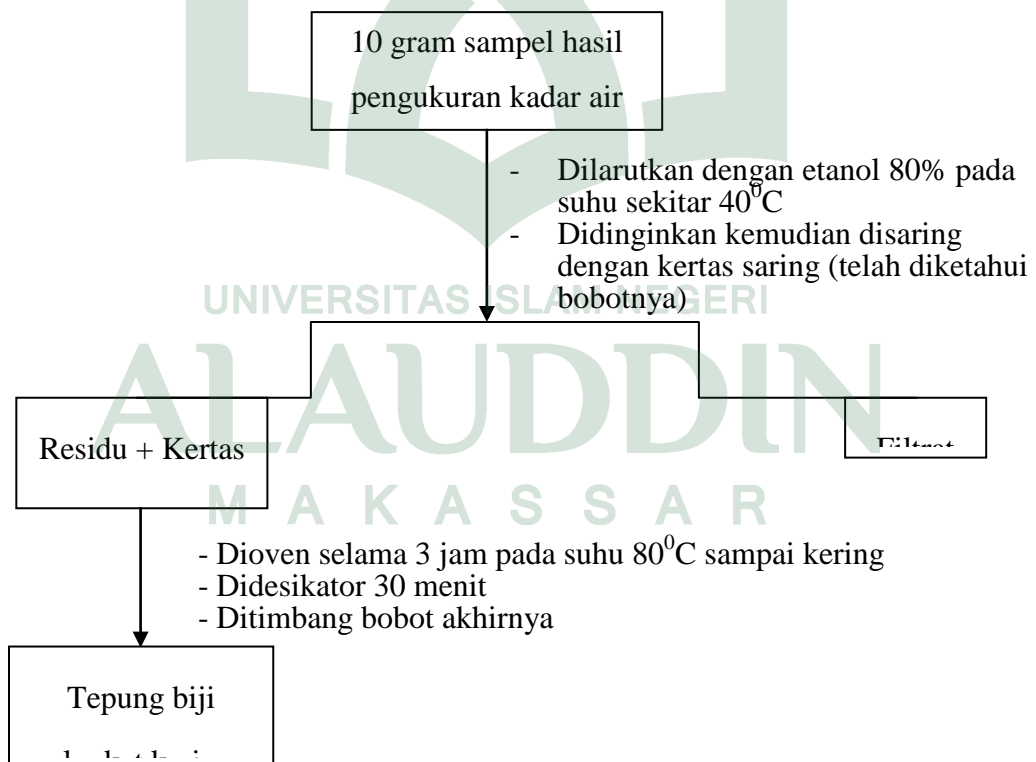


c. Analisis Kadar Air

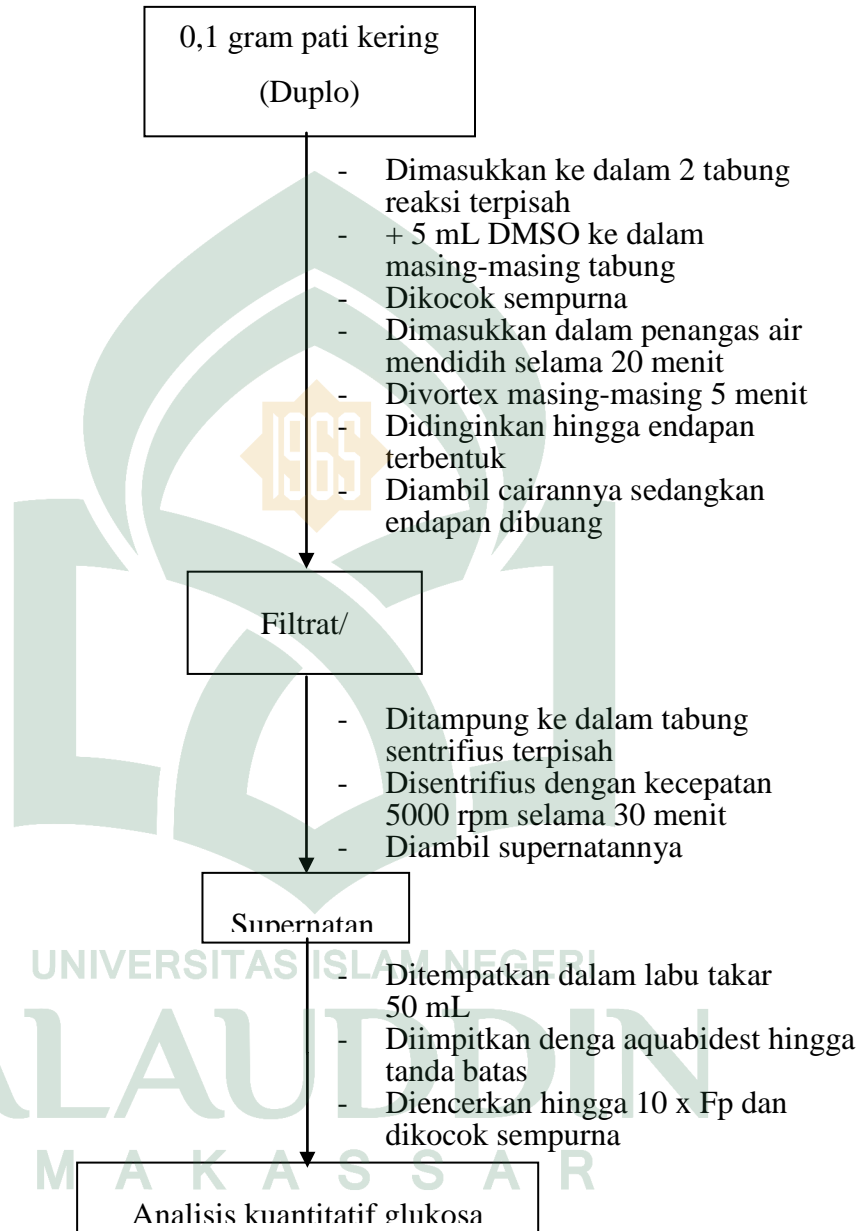


d. Penentuan Kadar Pati

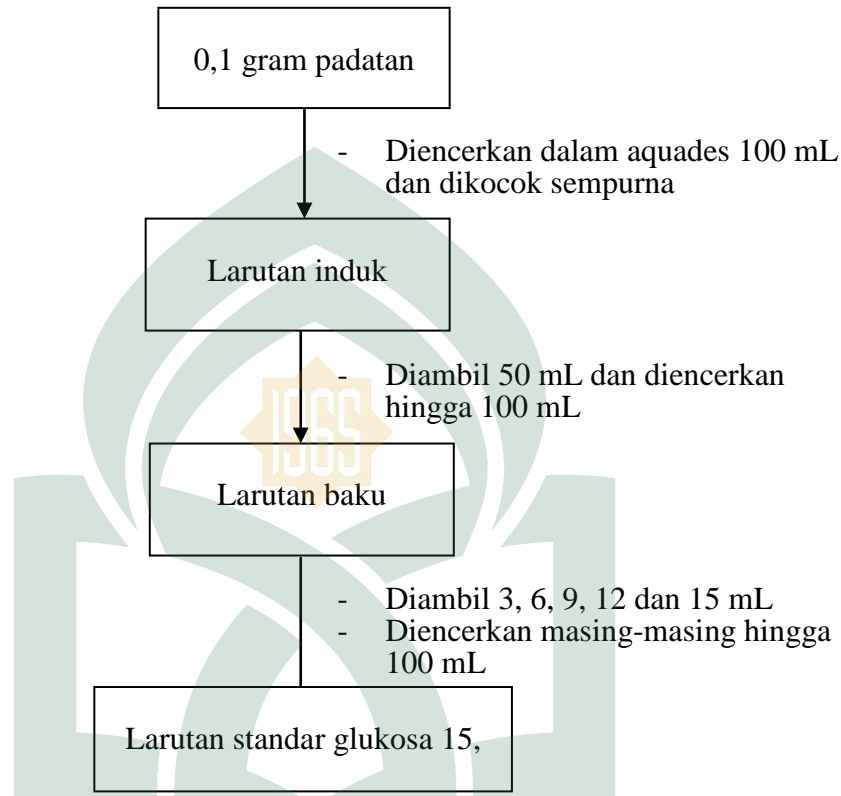
1. Penetapan gula BM rendah yang hilang



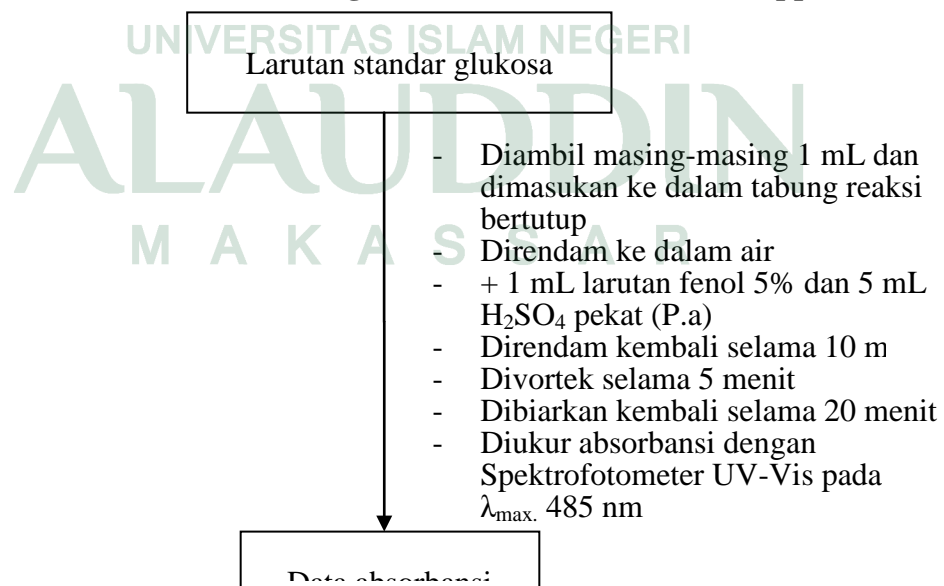
2. Penentuan kandungan pati



3. Pembuatan deret standar 0, 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm

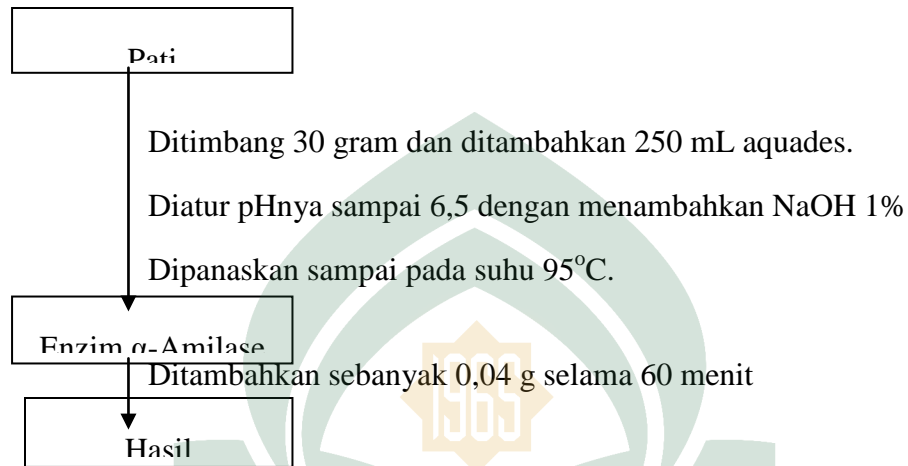


4. Pembuatan kurva standar glukosa 0, 15, 30, 45, 60 dan 75 ppm

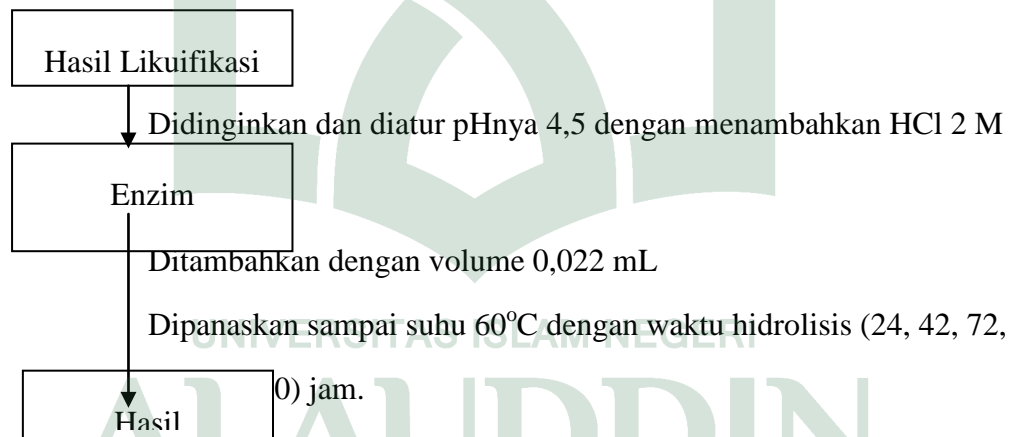


Lampiran 3. Proses Hidrolisis Dengan Katalisator Enzim

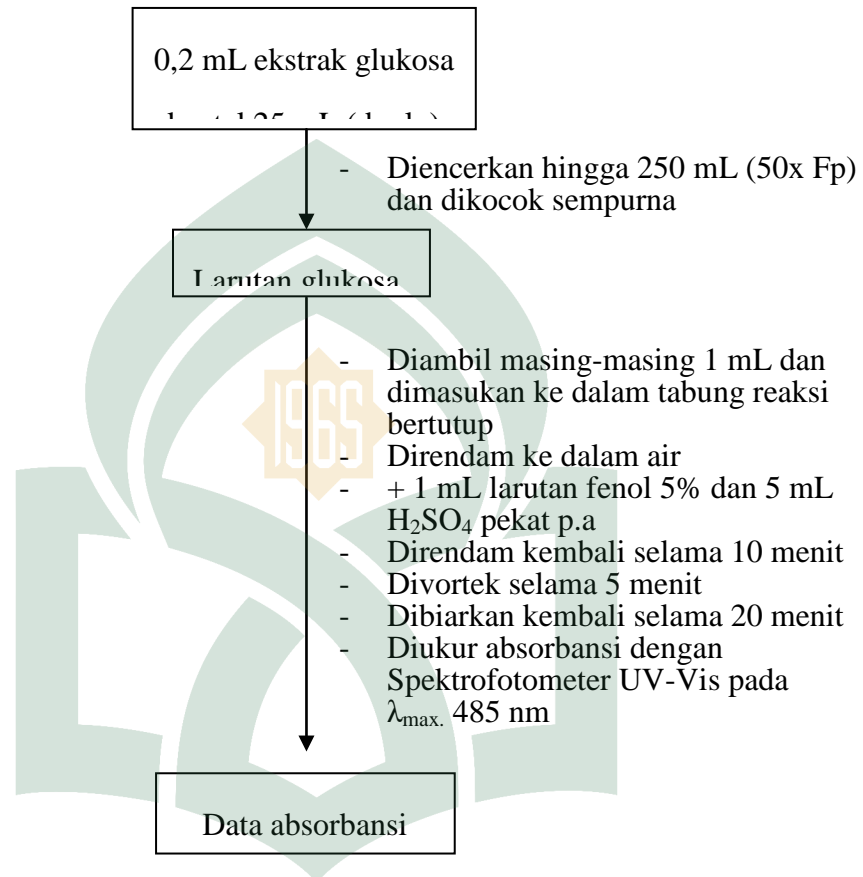
a. Proses Likuifikasi



b. Proses Sakarifikasi



c. Analisis glukosa hasil hidrolisis pati biji Alpukat dengan Katalisator Enzim



Lampiran 4. Data Analisa Kadar Air dari Sampel Biji Alpukat

Berat cawan Porselin (a)/g	Berat sampel (b)/gram	Berat awal (a+b)/gram	Berat akhir (c)/gram	Kadar air (%)
37,7967	1,0000	38,7967	38,7118	8,49

Perhitungan kadar air

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{(a+b) - c}{b} \times 100\% \\
 &= \frac{38,7967 - 38,7118}{1,0000} \times 100\% \\
 &= \frac{0,0849}{1,0000} \times 100\% \\
 &= 8,49\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Data Penentuan Gula BM Rendah yang Hilang (Perlakuan dengan Etanol 80%)

Berat kertas saring (a)/g	Berat sampel awal (b)/g	Berat sampel + kertas saring (oven) (a+b)/g	Berat akhir sampel (oven) (c)/g	Selisih (c-b)/g	Gula BM rendah yang hilang (%)
0,9221	10,0011	11,8533	10,9312	0,9301	9,29

Perhitungan gula BM rendah yang hilang

$$\begin{aligned}
 \text{Gula BM rendah yang hilang} &= \frac{\text{selisih}}{\text{berat awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{c - b}{b} \times 100\% \\
 &= \frac{0,9301}{10,0011} \times 100\% \\
 &= 9,29\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Data Penentuan Uji Kandungan Pati Biji Alpukat

a. Absorbansi standar glukosa

Panjang gelombang max (λ_{max}) = 485 nm

No.	Konsentrasi/ppm	Absorbansi
1	0	0,0691
2	15	0,1261
3	30	0,2294
4	45	0,4038
5	60	0,5003
6	75	0,6661

b. Absorbansi untuk nilai TS (total sugar) pada penentuan kadar pati

Panjang gelombang max (λ_{max}) = 485 nm

No.	Absorbansi
1	0,3017
2	0,3325
Rata-rata	0,3171

1. Analisa kandungan pati biji alpukat

Diketahui : Kadar air = 8,49%

Kadar non airnya = 91,51%

Jadi \approx kadar non air x massa sampel x kadar air

$\approx 0,9151 \times 0,1 \text{ gram sampel} \times 0,849 \text{ glu/pati}$

$= 0,0776$ (diasumsikan 100% pati dalam biji alpukat)

$= 0,0776 \text{ gram} \times \frac{1}{50 \text{ mL DMSO}} \times \frac{20}{20} = \frac{1,552 \text{ gram}}{1000 \text{ mL}}$

$= 1552 \text{ mg/L} = 1552 \text{ ppm}$

2. Perhitungan factor pengenceran larutan pati biji alpukat

$$\begin{array}{lcl}
 X & \xrightarrow{\approx} & 50 \text{ mL} \\
 & \downarrow & \\
 & 10 \text{ mL} & \approx 50 \text{ mL} \\
 \text{Faktor pengenceran} & \rightarrow & 10 \times 50 = X \times 50 \\
 & X & = 10 \times \text{FP}
 \end{array}$$

c. Hasil pengukuran nilai TS (total sugar) pati biji alpukat

$$Y = 0,0082X + 0,0266$$

$$A_{\text{rata-rata}} = 0,3171$$

$$Y = 0,0082X + 0,0266$$

$$0,3171 - 0,0266 = 0,0082X$$

$$0,2905 = 0,0082X$$

$$X = 35,4268 \times \text{FP}$$

$$= 35,4268 \times 10$$

$$= 354,268 \text{ ppm}$$

d. Perhitungan kadar pati biji alpukat

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar pati} &= \frac{\text{nilai TS}}{\text{asumsi 100\% pati}} \times 100\% \\
 &= \frac{354,268}{1552} \times 100\% \\
 &= 22,82\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Data Penentuan hidrolisis pati oleh katalis enzim tiap satuan waktu

a. Data absorbansi, konsentrasi glukosa dan kadar glukosa hasil hidrolisis pati biji alpukat

$$[\text{pati}]_{\text{awal}} = [A]_0 = 22,82\%$$

No.	Waktu/jam	Absorbansi	Konsentrasi glukosa/ppm	Kadar glukosa / (% berat)
1	24	0,1004	9,0000	1,50
2	48	0,1334	13,0243	2,17
3	72	0,1513	15,2073	2,53
4	96	0,1570	15,9024	2,65
5	120	0,1810	18,8292	3,13

b. Perhitungan faktor pengenceran larutan glukosa hasil hidrolisis

Misalnya: untuk larutan glukosa hasil hidrolisis oleh enzim pada waktu

$$\begin{array}{lcl}
 & 24-120 \text{ jam} & \\
 X & \approx 25 \text{ mL} & \\
 & \downarrow & \\
 & 0,2 \text{ mL} \approx 250 \text{ mL} &
 \end{array}$$

$$\text{Faktor pengenceran} \rightarrow 0,2 \times 25 = X \times 250$$

$$X = 50 \times \text{FP}$$

c. Perhitungan konsentrasi glukosa/ppm

Misalnya untuk waktu 120 jam

$$Y = 0,0082X + 0,0266$$

$$0,1810 - 0,0266 = 0,0082X$$

$$0,1544 = 0,0082X$$

$$X = 18,8292 \text{ ppm}$$

d. Perhitungan kadar glukosa/(% berat)

$$\% \text{ berat} = \frac{A \times B}{C} \times 100\%$$

Keterangan : A = kadar glukosa dari kurva

B = factor pengenceran

C = bobot sampel (mg)

$$\begin{aligned} \% \text{ berat} &= \frac{A \times B}{C} \times 100\% \\ &= \frac{18,8292 \times 50}{30000} \times 100\% \\ &= 3,13\% \end{aligned}$$

Lampiran 8. Data Penetapan Kadar Pati Biji Alpukat Hasil Hidrolisis

a. Data kadar pati bereaksi dan kadar pati sisa hasil hidrolisis pati biji alpukat menggunakan katalisator enzim

$$[\text{pati}]_{\text{awal}} = [A]_0 = 22,82\%$$

No.	Waktu/jam	24	48	72	96	120
1	Kadar glukosa terbentuk (% berat)	1,50	2,17	2,53	2,65	3,13
2	Pati bereaksi (%)	6,57	9,50	11,08	11,61	13,11
3	Pati sisa (%)	16,25	13,32	11,74	11,21	9,11
4	Konversi Pati (%)	28,79	41,63	48,55	50,87	60,07

b. Perhitungan kadar pati bereaksi dan kadar pati sisa hasil hidrolisis pati biji alpukat menggunakan katalisator enzim

Misalnya untuk $t = 120$ jam

Diketahui : $[\text{pati}]_{\text{awal}} = [A]_0 = 22,82\%$

Kadar glukosa terbentuk/(% berat) = 3,13%

$$\text{Pati bereaksi (\%)} = \frac{\text{glukosa terbentuk}}{\text{kadar pati awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{3,13\%}{22,82\%} \times 100\%$$

$$= 13,71\%$$

$$\text{Pati sisa (\%)} = \text{pati awal} - \text{pati bereaksi}$$

$$= 22,82\% - 13,71\%$$

$$= 9,11\%$$

$$\text{Koversipati (\%)} = \frac{\text{pati bereaksi}}{\text{pati awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{13,71\%}{22,82\%} \times 100\%$$

$$= 83,21 \%$$

Lampiran 9. Data Penetapan Orde Reaksi dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Pati Biji Alpukat

a. Penentuan konstanta kecepatan reaksi dan orde reaksi metode grafik

1. Uji coba Orde I

$$[A]_0 = 22,82\%$$

No.	t/jam	[A]	ln [A]
1	24	16,25	2,7880
2	48	13,32	2,5892
3	72	11,74	2,4630
4	96	11,21	2,4168
5	120	9,11	2,2093

2. Uji coba Orde II

$$[A]_0 = 22,82\%$$

No.	t/jam	[A]	1/[A]
1	24	16,25	0,0615
2	48	13,32	0,0750
3	72	11,74	0,0851
4	96	11,21	0,0892
5	120	9,11	0,1097

b. Penentuan konstanta kecepatan reaksi dan orde reaksi metode substitusi

1. Uji coba Orde I

$$\ln [A] = -kt + \ln [A]_0$$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

a. Untuk $t = 24$ jam, $[A] = 16,25\%$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

$$\ln \frac{22,82\%}{16,25\%} = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$\ln 1,4043 = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$0,3395 = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,3395}{24 \text{ jam}} = 0,0141 \text{ jam}^{-1}$$

b. Untuk $t = 48$ jam, $[A] = 13,32\%$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

$$\ln \frac{22,82\%}{13,32\%} = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$\ln 1,7132 = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$0,5383 = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,5383}{48 \text{ jam}} = 0,0112 \text{ jam}^{-1}$$

c. Untuk $t = 72$ jam, $[A] = 11,74\%$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

$$\ln \frac{22,82\%}{11,74\%} = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$\ln 1,9437 = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$0,6645 = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,6645}{72 \text{ jam}} = 0,0092 \text{ jam}^{-1}$$

d. Untuk $t = 96 \text{ jam}$, $[A] = 11,21\%$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

$$\ln \frac{22,82\%}{11,21\%} = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$\ln 2,0356 = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$0,7107 = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,7107}{96 \text{ jam}} = 0,0074 \text{ jam}^{-1}$$

e. Untuk $t = 120 \text{ jam}$, $[A] = 9,11\%$

$$\ln \frac{[A]_0}{[A]} = k \cdot t$$

$$\ln \frac{22,82\%}{9,11\%} = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$\ln 2,5049 = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$0,9182 = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,9182}{120 \text{ jam}} = 0,0076 \text{ jam}^{-1}$$

Jadi konstanta kecepatan reaksi adalah

$$\begin{aligned}
 k_{\text{rata-rata}} &= \frac{k_1 + k_2 + k_3 + k_4 + k_5}{5} \\
 &= \frac{(0,0141 + 0,0112 + 0,0092 + 0,0074 + 0,0076) \text{ jam}^{-1}}{5} \\
 &= 0,0099 \text{ jam}^{-1}
 \end{aligned}$$

2. Uji coba orde II

$$\frac{1}{[A]} = k \cdot t + \frac{1}{[A]_0}$$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

a. Untuk $t = 24$ jam, $[A] = 16,25\%$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

$$\frac{1}{16,25\%} - \frac{1}{22,82\%} = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$0,0615\% - 0,0438\% = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$0,0177\% = k \cdot 24 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,0177\%}{24 \text{ jam}}$$

$$k = 0,00073 \% \text{ jam}^{-1}$$

b. Untuk $t = 48$ jam, $[A] = 13,32\%$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

$$\frac{1}{13,32\%} - \frac{1}{22,82\%} = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$0,0750\% - 0,0438\% = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$0,0312\% = k \cdot 48 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,0312\%}{48 \text{ jam}}$$

$$k = 0,00065 \text{ \%jam}^{-1}$$

c. Untuk $t = 72 \text{ jam}$, $[A] = 11,74\%$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

$$\frac{1}{11,74\%} - \frac{1}{22,82\%} = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$0,0851\% - 0,0438\% = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$0,0413\% = k \cdot 72 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,0413\%}{72 \text{ jam}}$$

$$k = 0,00057 \text{ \%jam}^{-1}$$

d. Untuk $t = 96 \text{ jam}$, $[A] = 11,21\%$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

$$\frac{1}{11,21\%} - \frac{1}{22,82\%} = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$0,0892\% - 0,0438\% = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$0,0454\% = k \cdot 96 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,0454\%}{96 \text{ jam}}$$

$$k = 0,00047 \text{ \%jam}^{-1}$$

e. Untuk $t = 120 \text{ jam}$, $[A] = 9,11\%$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A]_0} = k \cdot t$$

$$\frac{1}{9,11\%} - \frac{1}{22,82\%} = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$0,1097\% - 0,0438\% = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$0,0659\% = k \cdot 120 \text{ jam}$$

$$k = \frac{0,0659\%}{120 \text{ jam}}$$

$$k = 0,00054 \text{ \%jam}^{-1}$$

Jadi konstanta kecepatan reaksi adalah

$$k_{\text{rata-rata}} = \frac{k_1 + k_2 + k_3 + k_4 + k_5}{5}$$

$$= \frac{(0,00073 + 0,00065 + 0,00057 + 0,00047 + 0,00054) \text{ \%jam}^{-1}}{5}$$

$$= 0,00059 \text{ \%jam}^{-1}$$

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI

ALAUDDIN
M A K A S S A R

Lampiran 10. Perhitungan Kinetika Enzimatik

$$Y = -101,0539x + 101,0977$$

$$a = -101,0539x$$

$$b = 101,0977$$

Persamaan Michelis-Menten

$$\frac{1}{v} = \left(\frac{K_m}{V_{maks}} \right) \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{V_{maks}}$$

$$b = \frac{1}{V_{maks}}$$

$$V_{maks} = \frac{1}{b} = \frac{1}{101,0977} = 0,0098$$

$$a = \frac{K_m}{V_{maks}}$$

$$K_m = a \times V_{maks}$$

$$= -101,0539 \times 0,0098$$

$$= -0,9903$$

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
 MAKASSAR

LAMPIRAN DOKUMENTASI

1. Preparasi Sampel dan Pembuatan Pati



Biji Alpukat



Biji Alpukat yang telah dikupas kulitnya



Potongan Biji Alpukat



Diblender



Penyaringan



Pengendapan



Pengeringan dengan oven



Penghalusan



Pengayakan



Hasil Ayakan

2. Analisis Kadar Air



Bobot cawan Kosong



Menimbang sampel



Mengoven Sampel



Didinginkan



Hasil Kadar Air

3. Penetapan Kadar BM Rendah yang Hilang



Menimbang Sampel



Melarutkan dengan etanol
dan Dipanaskan



Bobot kertas saring



Penyaringan



Dioven



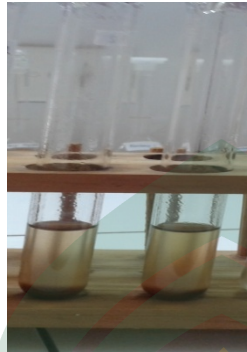
Menimbang bobot akhir

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

4. Penentuan Kandungan Pati



Sampel



+ DMSO



Dipanaskan



Divortex



ditempatkan di labu takar
dan diimpitkan



10 x FP

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

Pembuatan Deret Standar



Glukosa p.a



Larutan induk
1000 ppm



Larutan baku
500 ppm



Larutan standar
15 ppm



30 ppm



45 ppm



60 ppm



75 ppm

Pembuatan Kurva Standar



Larutan Standar



Sampel



Direndam ke dalam air

+ Fenol dan H_2SO_4 

Divortex



UV-Vis

5. Hidrolisis dengan Katalisator Enzim



Sampel



Dilarutkan



Mengatur pH



Dipanaskan

dan + enzim α -amilase



Didinginkan



Mengatur pH



+ enzim glukamilase



Dipanaskan

6. Analisis Glukosa hasil Hidrolisis



Ekstrak glukosa



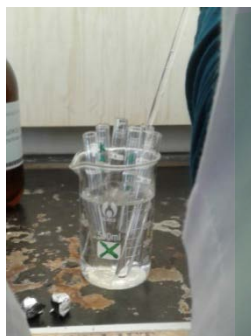
Diencerkan 250 mL



Glukosa 1 mL



Direndam



+ Fenol 5%



+ H₂SO₄ p.a



Divortex



Pengukuran

absorbansi dengan UV-Vis

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
 MAKASSAR

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Sartika Amin. Lahir di Enrekang, Kecamatan Enrekang, Sulawesi Selatan pada tanggal 24 Desember 1993. Anak ke 2 dari 3 bersaudara dari pasangan Bapak Amin, S.Pd. dan Ibu Rosmini. Penulis memulai pendidikan pada usia 5 tahun di taman kanak-kanak TK Aisyah, Enrekang. Kemudian melanjutkan pendidikan di SDN 1 Enrekang dan selesai pada tahun 2006. Penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Enrekang dan tamat pada tahun 2009, kemudian melanjutkan pendidikan di daerah yang sama yaitu SMAN 1 Enrekang, Kab. Enrekang hingga tahun 2012. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan ke perguruan tinggi negeri UIN Alauddin Makassar dengan mengambil prodi S1 Sains Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, dan menyelesaikan penelitian serta tugas akhir skripsi pada tahun 2017 dengan mengambil judul “**Kinetika Kimia Glukosa dari Pati Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan katalisator enzim α -amilase dan glukamilase**”.